

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS β -
LACTÁMICOS, EN LECHE PASTEURIZADA Y COMERCIALIZADA EN
BOLSA, DE ORIGEN BOVINO MEDIANTE LA PRUEBA DELVOTEST® EN
LA CIUDAD DE PASTO.**

**LOURDES STEFANIA PAZ SALAS
CARLOS FELIPE TAPIA ZAMUDIO**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
SAN JUAN DE PASTO
2007**

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS β -
LACTÁMICOS, EN LECHE PASTEURIZADA Y COMERCIALIZADA EN
BOLSA, DE ORIGEN BOVINO MEDIANTE LA PRUEBA DELVOTEST® EN
LA CIUDAD DE PASTO.**

**LOURDES STEFANIA PAZ SALAS
CARLOS FELIPE TAPIA ZAMUDIO**

**Trabajo de tesis presentado como requisito parcial para optar al título de
Médico Veterinario.**

**Presidente
JUAN MANUEL ASTAIZA MARTÍNEZ
Médico Veterinario y Zootecnista**

**Co-Presidente
CARMENZA JANETH BENAVIDES MELO
Médico Veterinario**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
SAN JUAN DE PASTO
2007**

“Las ideas y conclusiones aportadas en el presente trabajo de Grado, son responsabilidad exclusiva de sus autores”.

Artículo 1° del Acuerdo No. 324 de 11 de Octubre de 1966, emanado del Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación

Juan Manuel Astaiza Martínez
MVZ, sp.
Presidente

Carmenza Janeth Benavides Melo
MV, sp.
Co - Presidente

Eudoro Gerardo Bravo Rueda
MV
Jurado Delegado

Oscar Mauricio Guerrero Osejo
MV
Jurado

San Juan de Pasto, Octubre del 2007.

DEDICATORIA

A mis abuelos, Jaime, Rufino, Graciela y Nieves.

A mis padres, mis hermanos, tíos y tías, primos y primas.

A mis amigos.

A Ana

CARLOS FELIPE TAPIA ZAMUDIO.

DEDICATORIA

*A mi madre por su apoyo incondicional.
A Santiago y Jimmy quienes me impulsan a ser cada vez mejor.
Gracias a mi familia y amigas por su comprensión.*

LOURDES STEFANIA PAZ SALAS.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a:

La Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Pecuarias, Programa de Medicina Veterinaria.

A la clínica Veterinaria “Carlos Martínez Hoyos”.

Médico Veterinario y Zootecnista JUAN MANUEL ASTAIZA por su amable y oportuno asesoramiento en el presente trabajo.

Médico Veterinario CARMENZA JANETH BENAVIDES MELO, por continuar con la asesoría y el apoyo necesarios para culminar este proyecto.

Al Instituto Departamental de Salud de Nariño, por su colaboración a través de la Subdirección de Promoción y Prevención, Oficina de Salud Ambiental; y al laboratorio de Salud Pública de Nariño.

Medico Veterinario MAURICIO GUERRERO, por su colaboración para la realización del presente trabajo de investigación.

CONTENIDO

	pág.
GLOSARIO	21
RESUMEN	22
ABSTRACT	24
INTRODUCCIÓN	26
1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA	27
2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	30
3. OBJETIVOS	31
3.1 OBJETIVO GENERAL	31
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
4. MARCO TEÓRICO	32
4.1 LA LECHE	32
4.1.1 Definición.	32
4.1.2 Composición físico química de la leche.	32
4.1.3 Leche pasteurizada.	33

Composición físico química de la leche pasteurizada.	33
4.1.4 Propiedades nutricionales de la leche.	34
4.1.5 Contaminantes de la leche.	35
4.1.6 Estándares de calidad.	35
4.2 PRUEBAS PARA DETERMINAR LAS PROPIEDADES FÍSICO QUÍMICAS DE LA LECHE	36
4.2.1 Generalidades.	37
Porcentaje de grasa mínimo.	37
Porcentaje de extracto seco total (sólidos totales).	38
Métodos gravimétricos.	38
Métodos volumétricos.	38
Métodos basados en la medición de una determinada propiedad.	39
Porcentaje de extracto seco desengrasado.	39
Fosfatasa.	40
Peroxidasa.	41
Densidad.	41

Acidez expresada como ácido láctico.	42
Índice crioscópico.	42
4.2.2 Ekomilk.	43
4.3 LOS ANTIBIÓTICOS	44
4.3.1 Definición.	44
4.3.2 Clasificación por mecanismo de acción.	44
4.3.3 Principios de la antibíoticoterapia.	45
4.3.4 Problemática del empleo de antimicrobianos.	46
Efectos secundarios de los antimicrobianos.	47
Farmacocinética de los antibíoticos en la glándula mamaria.	48
4.3.5 Antibíoticos β-lactámicos.	50
Características generales.	50
Mecanismo de acción.	51
Mecanismos de resistencia.	53
Farmacocinética.	53

Farmacodinamia.	54
Penicilinas.	54
Bencilpenicilinas (bencilpenicilina) y penicilina V.	55
Aminopenicilinas.	56
Penicilinas antiestafilocócicas o penicilinas isoxazólicas.	57
Penicilinas antipseudomonas.	58
Cefalosporinas.	58
Cefalosporinas de primera generación.	60
Cefalosporinas de segunda generación.	60
Cefalosporinas de tercera generación.	61
Cefalosporinas de cuarta generación.	62
4.4 SALUD PÚBLICA	62
4.4.1 Implicaciones para la salud pública.	62
4.4.2 Efectos sobre la salud pública.	63
Efectos directos.	63

Efectos indirectos.	64
Resistencia bacteriana.	64
Alergias.	65
Alteración de la flora intestinal.	65
4.5 MÉTODOS DE DETECCIÓN DE RESIDUOS ANTIBIÓTICOS	66
4.5.1 Generalidades.	66
4.5.2 Clasificación.	67
Tests microbiológicos.	67
Difusión en Gelosa.	67
Difusión en gelosa y acidificación.	68
Tests rápidos.	68
Tests Específicos.	68
Tests de identificación y cuantificación.	68
Electroforesis.	68
Espectrofotometría con luz ultravioleta.	69
Cromatografía.	69

4.5.3 Delvotest.	70
5. DISEÑO METODOLÓGICO	72
5.1 LOCALIZACIÓN	72
5.2 POBLACIÓN Y MUESTRA	72
5.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	72
5.4 FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS	73
5.5 TÉCNICAS PARA LA RECOLECCIÓN Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN	73
5.6 EQUIPOS Y UTENSILIOS	74
5.7 TÉCNICA DE LABORATORIO	75
5.7.1 Preparación de las muestras.	75
5.7.2 Delvotest.	75
5.7.3 Ekomilk.	76
6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	77
6.1 DELVOTEST	77

6.1.1 Tabulación cruzada y prueba Chi cuadrado.	77
6.2 EKOMILK	80
6.2.1 Análisis de varianza para las propiedades físico químicas.	80
Anova para densidad.	80
Anova para grasa.	82
Anova para agua agregada.	83
Anova para proteína.	85
Anova para SNF.	87
6.2.2 Método de multivariantes para determinar el componente principal.	89
Ponderación del componente.	90
Índice físico químico.	90
6.2.3 Intervalos para propiedades físico químicas.	92
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	94
7.1 CONCLUSIONES	94

7.2 RECOMENDACIONES	94
BIBLIOGRAFÍA	96
ANEXOS	102

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Tabla comparativa de características físicas y químicas de la leche normal y leches adulteradas.	37
Tabla 2. Frecuencias para marca según delvotest.	78
Tabla 3. Contraste de Chi-cuadrado.	79
Tabla 4. ANOVA para densidad según marca.	81
Tabla 5. ANOVA para grasa según marca.	83
Tabla 6. Resumen estadístico para grasa.	83
Tabla 7. ANOVA para agua agregada según marca.	84
Tabla 8. ANOVA para proteína según marca.	86
Tabla 9. ANOVA para SNF según marca.	88
Tabla 10. Análisis de componentes principales.	89
Tabla 11. Pesos de las componentes.	90
Tabla 12. ANOVA para índice físico químico según marca.	91
Tabla 13. Intervalo de valores para las propiedades físico químicas.	93

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Características fisicoquímicas de la leche entera.	34
Cuadro 2. Ejemplos de MRL en Europa, para el Codex Alimentarius y para Estados Unidos. (ppb).	48
Cuadro 3. Clasificación de las penicilinas.	56
Cuadro 4. Contraste Múltiple de Rango para densidad según marca.	82
Cuadro 5. Contraste Múltiple de Rango para agua agregada según marca.	85
Cuadro 6. Contraste Múltiple de Rango para proteína según marca.	87
Cuadro 7. Contraste Múltiple de Rango para SNF según marca.	88
Cuadro 8. Contraste múltiple de rango para índice físico químico según marca.	92

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Gráfico de Mosaico para marca según delvotest.	78
Figura 2. Diagrama de Barras para marca según delvotest.	79
Figura 3. Gráfico de cajas y bigotes para densidad según marca.	81
Figura 4. Gráfico de cajas y bigotes para grasa según marca.	83
Figura 5. Gráfico de cajas y bigotes para agua agregada según marca.	84
Figura 6. Gráfico de cajas y bigotes para proteína según marca.	86
Figura 7. Gráfico de cajas y bigotes para SNF según marca.	88
Figura 8. Gráfico de cajas y bigotes para índice físico químico según marca.	91

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Pruebas para propiedades físico químicas para leche pasteurizada.	103

GLOSARIO

ANTIBIÓTICOS β -LACTÁMICOS: Antibióticos de gran difusión y uso, al que pertenecen las penicilinas y cefalosporinas. Caracterizados por poseer un anillo β -lactámico en su estructura química.

CODEX ALIMENTARIUS: Comisión creada en 1963 por la FAO y la OMS para desarrollar normas alimentarias, reglamentos y otros textos relacionados.

CMI: Concentración mínima inhibitoria. Es la concentración mínima requerida de un antibiótico para inhibir a un microorganismo

MRL: Maximun residue limit o límite máximo para residuos. Límite máximo permitido para diferentes sustancias químicas que pueden encontrarse como residuos en diferentes productos.

DELVOTEST: Prueba de amplio espectro para detectar antibióticos β -lactámicos por debajo del MRL aceptado.

EKOMILK: Analizador de leche ultrasónico, diseñado para análisis rápidos, del contenido de grasa, sólidos no grasos, proteínas, densidad y agua agregada en la leche.

RESUMEN

La leche entera pasteurizada es uno de los productos de la canasta básica familiar que presenta mayor consumo en la población en general, siendo de vital importancia para mujeres gestantes y niños. Es por esto que el estado se asegura que la calidad de este producto sea óptima, mediante una legislación rigurosa y puntual.

Los antibióticos son los residuos que se encuentran en la leche con mayor frecuencia debido al uso inadecuado de los mismos. Produciendo alteraciones graves y subclínicas como resistencia bacteriana, alergias, alteración de la flora intestinal, en los humanos.

Dentro de los antibióticos, los antibióticos β -lactámicos son los de más frecuente uso en la práctica de la medicina veterinaria, debido a su gran gama de características farmacológicas, su gran difusión y costo.

Mediante la presente investigación se pretendió confirmar el estatus de inocuidad de la leche pasteurizada dada su gran importancia en el consumo diario, para esto se realizó la prueba microbiológica cualitativa comercial, Delvotest®, esto para detectar residuos de antibióticos β -lactámicos en la leche pasteurizada que era comercializada en bolsa en la ciudad de Pasto durante el periodo de tiempo correspondiente al estudio, se usaron tres marcas comerciales de leche pasteurizada que se denominaron como A, B y C.

Además se evaluó la leche mediante el analizador de leche Ekomilk® teniendo en cuenta las características físico químicas (grasa, proteína, densidad, sólidos no grasos y agua agregada), de la leche analizada se determinó si existían diferencias significativas entre las tres marcas.

El análisis estadístico se realizó mediante el software Statgraphics, haciendo uso de la estadística descriptiva, comparativa e inferencial. El número de muestras correspondió a 96 ($n=96$), muestras que se repartieron equitativamente entre las tres marcas en grupos de 32 muestras para cada marca.

Los resultados obtenidos para la presencia de antibióticos, en las 96 muestras, correspondieron a un 2.08% para muestras positivas a antibióticos mediante la prueba Delvotest®; y a un 97.92% para muestras negativas. Siendo la marca C la única que presentó positivos para antibióticos, que correspondieron a un 6.25% de las 32 muestras para esta marca.

En cuanto a las características físico químicas (grasa, proteína, densidad, sólidos no grasos y agua agregada), de la leche analizada no se presentó una

diferencia estadísticamente significativa únicamente para grasa, mientras que en las otras propiedades si.

Se determinó cual de las propiedades físico químicas era la más representativa de calidad de entre las cinco, esto se logro por medio del análisis de componentes principales y la ponderación del componente, por medio de lo cual se logró encontrar un componente principal que correspondió a la variable agua agregada ya que para este estudio esta componente explico el 78,732% de la variabilidad de los otros componentes convirtiendo al agua agregada en un indicador de calidad.

ABSTRACT

Pasteurized whole milk is one of products of the basic familiar basket that presents greater consumption in the general population, being of vital importance for pregnant women and children. It is for this reason that the state has to ensure that the quality of this product is optimal through a rigorous and precise legislation.

The antibiotics are the residues that are most frequently found in milk due to the inadequate use of such. Producing serious and subclinical alterations like bacterial resistance, allergies, alteration of the intestinal flora in the humans.

Within antibiotics, the β -lactámic antibiotics are those of more frequent use in the veterinary medicine practice, due to their great range of pharmacologic characteristics, its great diffusion and cost.

By means of the present investigation it was tried to confirm the status of innocuous, that the pasteurized milk must have due it's great importance in the daily consumption, for this a commercial qualitative microbiological test, Delvotest® was made, this to detect β -lactamic antibiotic residues in the pasteurized milk that was commercialized in stock market in the city of Pasto. During the period of time corresponding to the study, three pasteurized milk brands were used, and they where denominated like A, B and C.

In addition milk was evaluated using the milk analyzer Ekomilk® considering the chemical physical characteristics (fat, protein, density, non fat solids and added water), of analyzed milk it was determined if significant differences between the three brands existed.

The statistical analysis was made using the software Statgraphics, doing use of the descriptive, comparative and inferencial statistic. The number of samples corresponded to 96 ($n=96$), the samples were distributed equitably between the three marks in groups of 32 samples for each brand.

The results obtained for the antibiotic presence in the 96 samples corresponded to a 2,08% for positive samples to antibiotics using the Delvotest® test; and to 97,92% for negative samples. Being brand C the only one that showed positives results for antibiotics, that corresponded to a 6,25% of the 32 samples for this brand.

As far as the chemical physical characteristics (fat, protein, density, non fat solids and added water), of the analyzed milk, a statistically significant difference for fat was not found between the three brands, whereas in the other properties this difference was.

One of the chemical physical properties was as most representative between the five brands, this was achieved using the principal component analysis and

the weight of the component, by this method it was managed to find a principal component that corresponded to the variable added water since for this study this component explained the 78.732% of the variability of the other components turning the added water a quality indicator.

INTRODUCCIÓN

El presente trabajo de tesis pretende determinar la calidad de un alimento de gran importancia dentro de la canasta básica familiar como lo es la leche pasteurizada, ya que por su bajo costo e importancia nutricional es indispensable para el consumo de la población en general, especialmente entre niños, mujeres y ancianos. Se han realizado varios estudios sobre la presencia de residuos para antibióticos β -lactámicos a nivel de granja, pero se reportan pocos estudios actuales sobre residuos en la leche expendida en puntos de venta al público y las propiedades físico químicas que presenta esta leche.

Este trabajo de tesis presentó limitaciones en cuanto al aporte de información por parte de las plantas procesadoras, ya que las políticas de seguridad comercial prohibían entregar información detallada sobre algunos datos de la producción.

El estudio realizado permite determinar a cierto grado dentro de una escala conceptual, la calidad de leche pasteurizada que se está consumiendo actualmente y permite a entidades estatales tomar decisiones importantes en cuanto al control de este producto a nivel de puntos de venta y demuestra la necesidad de crear mecanismos que velen constantemente por la calidad de la leche pasteurizada.

1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

Teniendo en cuenta a Agrocadenas de Colombia, al Ministerio de Protección Social y Desarrollo rural e IICA¹, las actuales normas de inocuidad en los alimentos que buscan una mejor calidad para el consumidor final, debemos orientar nuestra atención a productos de suma importancia dentro del mercado local. Según el observatorio Agrocadenas de Colombia en el país, durante el año 2004 se consumieron alrededor de 1'243.592.951 kilogramos de leche líquida, convirtiéndola en un producto de suma importancia para la población en general.

Por lo tanto es de suma importancia resaltar la necesidad del monitoreo constante de este producto de la canasta familiar.

Según el Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos del Codex Alimentarius², se deben evitar leches “no idóneas”, es decir que estén dañadas, deterioradas o echadas a perder hasta el punto de dejar de ser aptas para el uso racional previsto; si contienen un agente biológico o químico, u otra materia o sustancia, que sean extraños a la naturaleza del alimento y hagan que la leche o los productos lácteos dejen de ser aptos para el uso racional previsto.

Teniendo en cuenta esto, según Parra³, existen sustancias contaminantes como los antibióticos que pueden aparecer residualmente como resultado de: no respetar los tiempos de retiro de los medicamentos, uso de medicamentos no aprobados, sobre dosificación de medicamentos, aplicación de medicamentos sin recomendación del medico veterinario, administración de medicamentos por vías no recomendadas por los laboratorios fabricantes, mezcla con leches contaminadas entre otras.

¹ AGROCADENAS DE COLOMBIA, MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL, IICA, Estadísticas agroindustria láctea de Colombia. [en línea]. Pagina web versión Xls, [fecha de consulta: 7 de febrero 2007]. Disponible en Internet: www.agrocadenas.gov.co

² CÓDIGO DE PRÁCTICAS DE HIGIENE PARA LA LECHE Y LOS PRODUCTOS LÁCTEOS CAC/RCP 57–2004. 4, 5p. [En línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta 16 Febrero de 2007]. Disponible en internet: www.codexalimentarius.net/download/standards/10087/CXC_0572004s.pdf

³ PARRA T. Maria Helena. Los residuos de medicamentos en la leche, problemática y estrategias para su control. Neiva (Colombia): CORPOICA-PRONATA, 2003. p. 39.

Esto es de vital importancia para salud pública ya que como lo menciona San Martín⁴, los antibióticos residuales en la leche pueden conllevar a problemas como: reacciones de hipersensibilidad, efectos tóxicos específicos, aparición de cepas resistentes y susceptibles de ser transmitidas al hombre y alteraciones de la flora intestinal.

Las consecuencias que tienen los residuos antibióticos por encima de los límites residuales máximos en la leche higienizada los convierte en un problema muy importante que puede estar afectando a nuestra región ya que no se han hecho estudios de investigación al respecto.

Según el Codex Alimentarius en su Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos del Codex Alimentarius se afirma que: “A lo largo de toda la cadena alimentaria se aplicarán buenas prácticas de higiene a fin de garantizar que la leche y los productos lácteos resulten inocuos e idóneos para el uso previsto”⁵.

Además en este mismo código⁶, se menciona dentro de las Funciones respectivas de los productores, fabricantes, distribuidores, minoristas, transportistas y consumidores de leche así como de las autoridades competentes, que aunque el fabricante tiene la responsabilidad de asegurar que los alimentos producidos sean inocuos e idóneos, es necesaria una cadena continua de medidas o controles aplicados por otras partes. Y además es importante reconocer que los distribuidores, las autoridades competentes y los consumidores también tienen un papel que desempeñar para asegurar la inocuidad e idoneidad de la leche y los productos lácteos.

Dentro del mismo código también se menciona que:

En el momento en que se presenta a los consumidores, la leche no debe contener ningún contaminante en un rango que ponga en peligro el nivel adecuado de protección de la salud pública, entendiéndose como contaminante a cualquier agente biológico o químico, materia extraña u otras sustancias no añadidas intencionalmente a los alimentos y que puedan comprometer la inocuidad o la aptitud de los alimentos⁷.

⁴ SAN MARTÍN, N., BETTY. Residuos de antibióticos y sulfas en leche. TECNO VET; Año N° 3, diciembre de 1995. [en línea]. Pagina versión HTML. [fecha de consulta: febrero 16 2007]. Disponible en Internet: www.tecnovet.uchile.cl

⁵ Ibid., p. 4.

⁶ Ibid., p. 5.

⁷ Ibid., p. 7.

El capítulo I del decreto número 616 de 2006 del Ministerio de la Protección social⁸, define a la leche higienizada como el producto obtenido al someter la leche cruda o la leche termizada a un proceso de pasteurización, ultra-alta-temperatura UAT (UHT), ultrapasteurización, esterilización para reducir la cantidad de microorganismos, u otros tratamientos que garanticen productos inocuos microbiológicamente. Adicionalmente en el Capítulo VI, artículo 32 del mismo decreto, se determina que la leche higienizada debe cumplir con ciertas condiciones especiales como lo son estar libre de adulterantes y conservantes y además que los niveles de sustancias tales como metales pesados, residuos de antibióticos o de otros medicamentos de uso veterinario, plaguicidas y aflatoxina M1, se deben regir por normas oficiales o en su defecto las normas internacionales del Codex Alimentarius (FAO-OMS).

⁸ COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Decreto número 616 de 2006. p. 4. [en línea]. Pagina Web versión HTML, [fecha de consulta: 16 de febrero]. Disponible en Internet: <http://www.planalidadleche.org.co/Decreto%20616%2028-02-2006%20MinProteccion.pdf>

2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

El problema que se presenta en cuanto a los residuos de antibióticos en alimentos, en este caso en la leche pasteurizada, se centra en un control que solo es llevado a cabo en las plantas pasteurizadoras por el laboratorio privado de las mismas. Por lo tanto, nosotros como consumidores finales no tenemos la certeza de la calidad de leche que se consume, por lo tanto se formula la pregunta: ¿cuál es la presencia de residuos de antibióticos β -lactámicos, en leche pasteurizada y comercializada en bolsa de origen bovino mediante la prueba Deltotest® en la ciudad de San Juan Pasto?.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de residuos de antibióticos β -lactámicos, en leche pasteurizada de tres marcas diferentes y comercializada en bolsa, de origen bovino mediante la prueba Delvotest® en la ciudad de Pasto.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la presencia en proporción de residuos de antibióticos β -lactámicos en leche pasteurizada de tres marcas diferentes y comercializada en bolsa, de de origen bovino mediante la prueba Delvotest® en la ciudad de Pasto.
- Comparar los resultados obtenidos por marca de leche en bolsa, teniendo en cuenta las propiedades físico-químicas (grasa, proteína, densidad, sólidos no grasos y agua agregada), de las muestras.
- Comparar los resultados obtenidos por marca de leche en bolsa, teniendo en cuenta el parámetro de agua agregada como indicador de calidad de las muestras.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 LA LECHE

4.1.1 Definición. Según Parra, T. citando a la FAO: (Food and Agriculture Organization: Organización para la alimentación y agricultura), “La leche es el producto de la secreción mamaria, obtenida por uno o varios ordeños, sin adición o sustracción alguna. La misma autora citando a salud pública menciona que la leche es el producto integral del ordeño completo de vacas sanas, sin contenido de calostro”⁹.

Según Magariños: “la secreción láctea de las glándulas mamarias de los mamíferos es un líquido de composición compleja, de color blanquecino y opaco, con un pH cercano al neutro y de sabor dulce. Su propósito natural es la alimentación de la cría durante sus primeros meses de vida”¹⁰.

Según el Ministerio de la Protección Social de Colombia: “la leche es el producto de la secreción mamaria normal de animales bovinos, bufalinos y caprinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños completos, sin ningún tipo de adición, destinada al consumo en forma de leche líquida o para la elaboración posterior”¹¹.

4.1.2 Composición físico química de la leche. Según Parra, T.:

La leche es una emulsión de materia grasa en una solución acuosa, que contiene numerosos elementos, unos en disolución y otros en estado coloidal; por lo tanto, la leche tiene la propiedad de ser una mezcla física y química, compuesta por agua, grasa, proteínas, azúcares, minerales, vitaminas, enzimas y algunos materiales celulares de la glándula mamaria¹².

⁹ FAO/OMS. Citado por PARRA Op. cit., p. 11.

¹⁰ MAGARIÑOS, Haroldo. Producción higiénica de la leche cruda para la pequeña y mediana empresa. [en línea]. Pagina versión Pdf. [fecha de consulta marzo 15]. Disponible en Internet: http://www.science.oas.org/OEA_GTZ/LIBROS/LA_LECHE/leche_all.pdf

¹¹ COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL DE COLOMBIA, Op. cit., p. 3.

¹² PARRA T., Op. cit., p. 12.

Sobre la composición química de la leche Closa, S, Landeta, A. y Cufre, J.¹³, mencionan que la leche de vaca contiene en promedio, alrededor de 7 gramos de minerales por litro. En donde la distribución y concentración de estos elementos en la mezcla de fases en equilibrio que la constituyen, difiere de acuerdo al elemento de que se trate. En la fase acuosa se encuentran disueltas con lactosa y compuestos nitrogenados solubles, sales minerales u orgánicas como citratos, fosfatos y cloruros de calcio, potasio, magnesio, sodio y trazas de hierro. En la fase coloidal se pueden encontrar suspendidas micelas de caseína insoluble que contienen aproximadamente un 20 % del calcio y fósforo unidos a su estructura y sales compuestas de fosfato de calcio coloidal, citratos y magnesio en proporciones fijas, que contribuyen a estabilizar las micelas. Los glóbulos de grasa emulsionados contienen un 1% de fosfolípidos y en sus membranas se fijan Fe, Cu, Zn y Mn. Más de la mitad del Fe y alrededor del 80% del zinc y cobre se fijan a micelas de caseína y entre el 15 al 30% del hierro, zinc y cobre se unen a las proteínas solubles. Las α -lacto albúminas contienen un átomo de calcio por molécula.

4.1.3 Leche pasteurizada. El Ministerio de la Protección Social de Colombia define a la leche pasteurizada como:

El producto obtenido al someter la leche cruda, termizada o recombinada a una adecuada relación de temperatura y tiempo para destruir su flora patógena y la casi totalidad de flora banal, sin alterar de manera esencial ni su valor nutritivo ni sus características fisicoquímicas y organolépticas. Las condiciones mínimas de pasteurización son aquellas que tiene efectos bactericidas equivalentes al calentamiento de cada partícula a 72°C - 76°C por 15 segundos (pasteurización de flujo continuo) o 61 °C a 63° C por 30 minutos (pasteurización discontinua) seguido de enfriamiento inmediato hasta temperatura de refrigeración¹⁴.

- **Composición físico química de la leche pasteurizada.** En cuanto a la composición físico química de la leche el Ministerio de la Protección Social de Colombia en el Artículo 18 del Capítulo V, correspondiente al Decreto 616 del 2006, determina las características físico químicas de la leche entera así:

¹³ CLOSA, Sara Josefina, DE LANDETA María C, ANDÉRICA, Daniel, PIGHÍN, Andrés CUFRE, Juan A. Contenido de nutrientes minerales en leches de vaca y derivados de Argentina. Archivos latinoamericanos de nutrición. Departamento de Tecnología. Universidad Nacional de Luján. Argentina. [en línea]. Pagina versión HTML. [fecha de consulta febrero 16]. Disponible en Internet: <http://www2.scielo.org.ve/scielo.php>.

¹⁴ COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Op., cit. p. 5.

Cuadro 1. Características fisicoquímicas de la leche entera

Parámetro/Unidad	Pasteurizada		Ultra pasteurizada		UAT(UHT)		Esterilizada	
	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.
Grasa % m/v mínimo	3.0		3.0		3.0		3.0	
Extracto seco total % m/m mínimo	11.30		11.20		11.20		11.20	
Extracto seco desengrasado % m/m mínimo	8.30		8.20		8.20		8.20	
Peroxidasa	Positiva		Negativa		Negativa		Negativa	
Fosfatasa	Negativa		Negativa		Negativa		Negativa	
Densidad 15/15°C g/ml	1.0300	1.0330	1.0295	1.0330	1.0295	1.0330	1.0295	1.0330
Acidez expresado como ácido láctico % m/v	0.13	0.17	0.13	0.17	0.13	0.17	0.13	0.17
Índice °C	-0.530	-0.510	-0.540	-0.510	-0.540	-0.510	-0.530	-0.510
Crioscópico °H	-0.550	-0.530	-0.560	-0.530	-0.560	-0.530	-0.550	-0.530

FUENTE. MINISTERIO DE LA PROTECCION SOCIAL DE COLOMBIA. Decreto 616 del 2006, Título II, Capítulo V, Artículo 18, Tabla 2

4.1.4 Propiedades nutricionales de la leche. Dentro de las propiedades nutricionales de la leche según Wikipedia la Enciclopedia Libre¹⁵, tenemos que por su diversificada composición, en la que las entran grasas (rica en ácidos grasos saturados, los triglicéridos), proteínas, (caseína, albúmina) y glúcidos (lactosa, azúcar específica de la leche), la convierten en un alimento muy completo. Además, la leche entera de vaca es una importante fuente de vitaminas (vitaminas A, B, D3, E). La vitamina D es la que fija el fosfato de calcio a dientes y huesos, por lo que se hace especialmente recomendable a los niños.

Como afirma Parra T.:

¹⁵ WIKIPEDIA, LA ENCICLOPEDIA LIBRE. Leche. [en línea]. Pagina versión HTML. [fecha de consulta: febrero 16]. <http://es.wikipedia.org/wiki/leche#propiedadesnutricionales>.

La leche de excelente calidad es un producto alimenticio de gran valor nutricional, con un contenido compensado de aminoácidos, grasas, carbohidratos, vitaminas y minerales, y bajo contenido de gérmenes patógenos, de células somáticas, con ausencia de cuerpos extraños y con sabor y olor normales. La leche es una fuente excelente de la mayoría de minerales requeridos para el crecimiento del lactante y para el mantenimiento de la integridad de los huesos en el adulto¹⁶.

4.1.5 Contaminantes de la leche. Magariños, H¹⁷. afirma que: la leche es la fuente de alimento que constituye un principio nutritivo que no puede ser superado por ningún otro alimento; sin embargo estas cualidades están sometidas a riesgos como la contaminación y multiplicación de microorganismos, contaminación con gérmenes patógenos, alteración físico-química de sus componentes, absorción de olores extraños, generación de malos sabores y contaminación con sustancias químicas, partículas de suciedad entre otros que finalmente hacen peligrar la calidad higiénica y nutricional original de la leche y consecuentemente conspiran en contra de la salud pública y la economía de cualquier empresa.

4.1.6 Estándares de calidad. El autor anteriormente citando a Keating afirma que:

Se habla frecuentemente de calidad, pero no siempre se atiende al significado completo y al concepto verdadero de este término. Por una parte, la leche al ser secretada, adquiere en cada caso individual, ciertas características físico-químicas que determinan su composición. Por otra parte, hay que tener en cuenta el estado de salud del animal productor ya que la leche, así como puede ser un excelente alimento puede también constituir un peligroso medio de difusión de enfermedades. Mientras los métodos racionales empleados en la producción hacen de la leche un producto de alta higiene, la falta o imperfección de estos métodos puede dar lugar a una sustancia malsana y repugnante. Es por ello que generalmente se reconoce que, para ser aceptable, una leche debe tener buena conservación, estar exenta de agentes patógenos y tener buena apariencia, alto valor nutritivo y estar limpia y libre de materias extrañas y suciedades¹⁸.

¹⁶ PARRA T. MARIA HELENA. Op., cit. p 12.

¹⁷ MAGARIÑOS. H. Op., cit. p. 9.

¹⁸ KEATING, P. El pago de la leche en función de la calidad, citado por MAGARIÑOS. H. Op., cit. p. 86.

Según Parra T.:

La calidad de la leche depende de las condiciones climáticas y de los factores fisiológicos normales de los animales que la producen, de factores genéticos, de la nutrición y salud de las vacas, de las condiciones en que se ordeña, y del manejo dado al producto hasta llegar al consumidor. La calidad de la leche puede estar afectada igualmente por el contenido de residuos de origen químico¹⁹.

De acuerdo con el artículo del British Columbia Ministry of Agriculture, Fisheries and Food Dairy Talk, "Added water: The Hidden Costs" se afirma que:

La presencia de agua adicionada en la leche se presenta frecuentemente por accidentes, prácticas erróneas y/o equipos defectuosos. A pesar de como llegó allí. Representa un costo para la industria porque:

1. El agua adicionada diluye los valores nutricionales de la leche.
2. El agua adicionada contamina la leche con bacterias potencialmente peligrosas y/o químicos²⁰.

Otras fuentes mencionan además que: "el agua adicionada es uno de los métodos de falsificación mas comúnmente usado y que todas las características de la leche se ven disminuidas así como los parámetros de calidad de la leche (densidad, grasa, y sólidos no grasos)"²¹. Como se puede ver en la tabla 1.

4.2 PRUEBAS PARA DETERMINAR LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS DE LA LECHE*

¹⁹ PARRA T., María Helena. Op., cit. p. 13.

²⁰ CANADA. BRITISH COLUMBIA MINISTRY OF AGRICULTURE, FISHERIES AND FOOD DAIRY TALK, Added water: the hidden costs. [en línea]. Página Web versión Pdf. [fecha de consulta: agosto 24 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.al.gov.bc.ca/dairy/publications/documents/added_water.pdf

²¹ LACTOSAN, Milk falsification. [en línea]. Página Web versión Html. [fecha de consulta: agosto 24 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.lactoscan.com/articles/milkfals.html>

4.2.1 Generalidades. Teniendo en cuenta al artículo 18 en el Capítulo V de la ley 616²². En donde se mencionan las propiedades físico químicas que debe cumplir la leche bovina entera pasteurizada podemos realizar una mención sobre las pruebas que se pueden realizar en la leche para determinar las mencionadas características, esto debido a que es esta norma la que rige actualmente sobre la calidad de la leche en Colombia.

Tabla 1. Tabla comparativa de características físicas y químicas de la leche normal y leches adulteradas.

Tipo de falsificación	Densidad	Grasa	Proteínas	Sólidos Totales	SNF
1. Leche normal	1,0310	3,5	3,4	12,70	9,20
2. Leche y agua	1,0279	3,15	3,06	11,43	8,28
3. Leche y leche con mantequilla	1,0313	3,19	3,37	12,35	9,16
4. Leche y suero	1,0307	3,2	3,16	12,15	8,95
5. Leche, agua y leche con mantequilla	1,0303	2,84	3,03	11,08	8,24
6. Leche, agua y suero	1,0276	2,85	2,82	10,88	8,03

FUENTE. LACTOSAN, Milk falsification

- **Porcentaje de grasa mínimo.** De acuerdo a la guía práctica para la determinación de grasa y sólidos totales en leche y derivados tenemos que:

Los métodos utilizados para la determinación de grasa en leche y derivados pueden clasificarse dentro de tres grupos:

1. Métodos volumétricos: que utilizan agentes químicos (ácido sulfúrico, detergentes), para lograr la ruptura de la emulsión, la separación de la grasa y medir consecutivamente la grasa separada en botellas especiales. A este grupo pertenecen los métodos de Babcock (Herreid 1942), de Gerber (Gerber – Schneider) y aquellos que emplean detergentes tales como la técnica Tesa.

2. Métodos gravimétricos: aquellos que utilizan solventes orgánicos para extraer la grasa, que luego de la evaporación de estos, se determina mediante pesada del extracto graso seco. En este grupo se

²² COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Op., cit. p. 14.

encuentra el método de Roesse-Gottfried y sus diversas modificaciones entre las cuales se encuentra la de Mojonnier (Mojonnier, Bros 1925).

3. Métodos instrumentales: fundamentados en la determinación de una determinada propiedad de la leche proporcional en algún sentido a su contenido de grasa. Por ejemplo la medición de la turbidez en condiciones controladas en instrumentos como el Milkotest, el Lactronic, etc²³.

- **Porcentaje de extracto seco total (sólidos totales).** Según el mismo artículo de Internet se afirma que: "El porcentaje promedio de sólidos totales es de 12.7% representados por la grasa en emulsión, las proteínas en solución coloidal, lactosa, vitaminas, sales y otros componentes orgánicos e inorgánicos en solución"²⁴.

Más adelante en el mismo artículo de La universidad del Zulia, Facultad de ciencias veterinarias, Departamento de producción e industria animal, Cátedra de ciencias y tecnología de la leche²⁵, se mencionan los métodos para la determinación de los sólidos totales como se resaltan a continuación:

- **Métodos gravimétricos.** Cuyo fundamento está en la evaporación del agua de una muestra de peso conocida y el pesaje del residuo seco. En estas técnicas la evaporación puede hacerse por diferentes técnicas como son: 1.) calentamiento preliminar en baño de vapor, seguido de una desecación a 98-100°C en estufa hasta alcanzar un peso constante (Método oficial de la Asociación Oficial de Análisis Químicos); 2.) Evaporación preliminar sobre una placa termoeléctrica hasta la aparición de las primeras trazas de color marrón, seguido de desecación al vacío a 100°C (Método de Mojonnier, 1925); 3.) Calentamiento con una lámpara de rayos infrarrojos o por el calor irradiado de una resistencia eléctrica (Newlander y Atherton, 1964).

- **Métodos volumétricos.** Permiten la determinación del agua contenida en una muestra por técnicas volumétricas, tal como la destilación y

²³ LA UNIVERSIDAD DEL ZUILA, FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN E INDUSTRIA ANIMAL, CÁTEDRA DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA DE LA LECHE. Determinación de grasa y sólidos totales en leche y derivados. Guía práctica. p. 3. [en línea]. Pagina Web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 10 de 2007]. Disponible en Internet: http://members.tripod.com.ve/tecnologia/solidosygrasa_archivos/STyGRASA.pdf

²⁴ Ibid. p. 9.

²⁵ Ibid. p. 9.

subsiguiente medición del agua destilada en un tubo colector graduado, como en el método de destilación con tolueno para analizar leche en polvo.

○ **Métodos basados en la medición de una determinada propiedad.** Aquí encontramos los siguientes métodos: 1.) Determinación del peso específico, en donde por fórmulas especiales se puede calcular el porcentaje de sólidos totales como el de sólidos no grasos; 2.) Medición de la absorbancia con infrarrojo, como el Milko-Scan de N. Foss Electric

• **Porcentaje de extracto seco desengrasado.** Esta característica es definida por un artículo de Internet así: “Los S.N.G.L. [siglas para sólidos no grasos lácteos], están compuestos por proteínas (mayoritariamente caseína), lactosa (el azúcar de la leche) y sales minerales (calcio, potasio, fósforo, magnesio, hierro, etc.)”²⁶.

En cuanto a la determinación de sólidos no grasos en leche, haciendo mención al método lactométrico se afirma que: “El peso específico de la leche aumenta proporcionalmente con el porcentaje de sólidos no grasos y disminuye a medida que aumenta el contenido de grasa”²⁷.

Además se afirma también que: “El aguado y la adición de crema tiende a disminuir esta propiedad, mientras que la separación de la grasa láctea la aumenta”²⁸.

Por lo que se da a conocer una fórmula para calcular el porcentaje de extracto seco desengrasado o sólidos no grasos de la siguiente forma:

$$\%ST = 0,25 L + 1,2 G \quad \%SNG = 0,25 L + 0,2 G$$

Donde: % ST: porcentaje de sólidos totales.

 % SNG: porcentaje de sólidos no grasos.

²⁶ MUNDO HELADO.COM. Los sólidos no grasos lácteos (S.N.G.L) o magros de la leche. [en línea]. Pagina web versión Html. [fecha de consulta: septiembre 11 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.mundohelado.com/helados/sngl.htm>

²⁷ UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA. Control físico-químico de la leche. Julio del 2004. p. 9. [en línea]. Pagina web versión ppt. [fecha de consulta: septiembre 10 de 2007]. Disponible en Internet: <http://academicos.cualtos.udg.mx/DiplomadoCalidadLeche/doctos/24jul04/Control%20fisico%20quimico%20de%20la%20leche.ppt>

²⁸ Ibid. p. 9.

L: lectura lactométrica corregida (60°F o 15,6 °C) en grados Quevenne.

G: porcentaje de grasa.

$$\%SNG=(d-1)1000/4+0.2G+0.14$$

Donde: %SNG= Porcentaje de sólidos no grasos.

D= densidad.

G= % de grasa²⁹.

- **Fosfatasa.** Según el artículo publicado por la Universidad autónoma de Madrid³⁰, esta es una de las pruebas empleadas para la comprobación del tratamiento térmico al que ha sido sometida la leche, esto mediante la determinación del grado de desnaturalización de las enzimas, en este caso de la fosfatasa.

En el mismo artículo se describe y justifica así:

El método se basa en lo siguiente: el paranitrofenilfosfato es incoloro en solución alcalina, se hidroliza rápidamente por la fosfatasa y el producto de hidrólisis es amarillo. Cuanto mas amarilla salga la disolución hay más fosfatasa sin desnaturalizar.

- Se introduce en tubos de ensayo 5 ml de reactivo y se tapan.
- Se colocan al baño María (37°C) 5 minutos.
- Añadir 1 ml de las muestras.
- Incubar los tubos 30 minutos en el baño.
- Mirar la coloración.

²⁹ Ibid. p. 10-11.

³⁰ UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID, DIPLOMATURA EN NUTRICIÓN HUMANA Y DIETÉTICA. Prácticas, productos lácteos. 2003. p. 14. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 11 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/mrgarcia/Lacteos-2005/Practicas%20_05-06_.pdf

Si aparece color amarillo nos indicaría la presencia de fosfatasa sin desnaturalizar³¹.

- **Peroxidasa.** Al igual en el mismo artículo anteriormente mencionado se describe y justifica el análisis de esta enzima de la siguiente forma:

Otra enzima presente en la leche se inactiva cuando los tratamientos son a partir de 80°C unos segundos. La presencia de la peroxidasa se puede detectar por su capacidad de descomposición del agua oxigenada liberando oxígeno atómico capaz de fijarse a una sustancia oxidable como el guayacol dando un producto de oxidación de color marrón.

- Se introduce en un tubo de ensayo 2 ml. de la leche.
- Se añaden 2 ml. de guayacol.
- Se agita.
- Se añade 1 gota de agua oxigenada.
- Se agita y se guarda el tubo en la mano para mantener temperatura.

La reacción es positiva (hay peroxidasa sin desnaturalizar) si aparece un color salmón³².

- **Densidad.** En cuanto a esta propiedad física el artículo sobre lácteos de la página de Internet Monografías menciona que:

La densidad de la leche se mide con un lactodensímetro, o pesa-leche, un modelo especial de densímetro, con el vástago graduado de 15 a 40. Cuando flota libremente dentro de la leche, sin tocar las paredes del recipiente, se lee a nivel de la superficie con visual horizontal. Las dos cifras leídas son el milésimo de la densidad y, por tanto, se escriben a continuación de la unidad: 1,0.

Ejemplo:

Lectura en el lactodensímetro: 30

Densidad de la leche, a 15 °C: 1,030 g/ml

³¹ Ibid. p. 14.

³² Ibid. p. 14.

El control de la temperatura es importante. Una variación de 5°C modifica la densidad en aproximadamente un milésimo. En el ejemplo anterior, si se opera a otras temperaturas, resulta:

Densidad, a 10 °C 1,031 g/ml

Densidad, a 20 °C 1,029 g/ml

Muchos lactodensímetros tienen incorporado un termómetro interno, para establecer la temperatura en el momento de la medición³³.

- **Acidez expresada como ácido láctico.** Teniendo en cuenta el artículo de la Universidad del Zulia³⁴, la acidez o acidez titulable posee un cierto nivel de acidez debido al contenido de anhídrido carbónico, proteínas y algunos iones de fosfato y citrato, sin embargo no debe poseer ácido láctico ya que esto es indicio de fermentación bacteriana sobre la lactosa de la leche. Es por esto que esta prueba es un indicador importante para la calidad higiénica de la leche. Se afirma también que existen diferentes métodos para determinar la acidez de la leche dentro de estos encontramos: la titulación con NaOH 0,1 N usando fenoftaleina en solución alcohólica como indicador y cuyo resultado se expresa en término de ml de leche de NaOH 0,1 N requeridos para neutralizar 100 ml de leche; Sistema de expresión en términos de porcentaje de ácido láctico: Grados Soxhlet-Henkel (ml de NaOH N/4 por 100 ml); Grados Dornic (ml NaOH N/9 por 100 ml).

- **Índice crioscópico.** De acuerdo con otro artículo de la Universidad del Zulia³⁵, los métodos que se aplican para la detección de agua adicionada en

³³ MONOGRAFIAS.COM. Lácteos. [en línea]. Pagina web versión Html. [fecha de consulta: agosto 18 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.monografias.com/trabajos6/lacte/lacte.shtml>

³⁴ LA UNIVERSIDAD DEL ZUILA, FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN E INDUSTRIA ANIMAL, CÁTEDRA DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LA LECHE. Introducción al control de calidad de la leche cruda, Guía práctica. 2003. p. 11. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 10 de 2007]. Disponible en Internet: http://members.tripod.com.ve/tecnologia/Introduccion_archivos/Introduccion.pdf

³⁵ LA UNIVERSIDAD DEL ZUILA, FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN E INDUSTRIA ANIMAL, CÁTEDRA DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LA LECHE. Determinación de adulteración de la leche con agua, cloruros y sacarosa, Guía práctica. 2002. p. 3. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 10 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.lactologia.org/Documentos/Adulteraciones.pdf>

leche se basan en la medición de una propiedad física que varía en proporción de la cantidad de agua de la muestra, en este caso el punto de congelación que donde deriva el método o índice crioscópico.

En este artículo explica también el principio del método para determinar su respectivo índice afirmando que:

El punto de congelación del agua a presión normal a nivel del mar (760 mmHg), es de 0,000 °C. al disolver en ella una sustancia (soluto), se obtiene una solución cuyo punto de congelación es inferior al del solvente puro. La diferencia entre los puntos de congelación de la solución y la del solvente puro, se denomina descenso crioscópico y es directamente proporcional a la concentración del soluto en solución³⁶.

En cuanto al mismo tema y hablando sobre los análisis de calidad en leche en el artículo de Zavala P. se afirma que: “El punto de congelación de la leche es medido para detección de agua agregada (crioscopia). [...] Los instrumentos arrojan valores en °H (Grados Hortvet) o en °C (Grados Centígrados). Las fórmulas de conversión pueden sustituir un sistema por otro”³⁷.

4.2.2 Ekomilk. Según los Laboratorios Tuteur³⁸, este analizador de leche, basado en los principios del ultrasonido, está diseñado para el análisis rápido y de bajo costo del contenido de grasa (rango: 0,5% - 9%, con una precisión de +/-0,5%); sólidos no grasos (rango: 6% - 12%, con una precisión de +/-0,2%); Densidad (rango: 1,0260 g/cm³ – 1,0330 g/cm³, con una precisión de +/-0,0005 g/cm³); Proteínas (rango: 2% - 6%, con una precisión de +/-0,2%); Agua agregada a la leche (rango: 0% - 60%, con una precisión de +/-5%). Todos estos parámetros se pueden medir en la leche de diferentes especies como lo son los bovinos, ovinos, bufalinos y caprinos. Dentro de las características del equipo podemos mencionar, un diseño simple y liviano, bajo costo de operación, consumo de baja potencia, requiere una muy pequeña cantidad de leche, no son usados ácidos u otros compuestos químicos, el usuario puede hacer ajustes en la precisión de la medición.

³⁶ Ibid. p. 4.

³⁷ ING. MAST. CIENCE ZAVALA POPE, José Mauricio. Aspectos nutricionales y tecnológicos de la leche. 2005. p. 28. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: marzo 20 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.minag.gob.pe/dgpa1/ARCHIVOS/agroin_doc2.pdf

³⁸ TETUR, Laboratorios. Ekomilk milkana, analizador integral de leche. 2005. p. 1-2. en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: agosto 4 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.tuteur.com.ar/files/productos/3_1_EKOMILK_Mal_de_leche.pdf

4.3 LOS ANTIBIÓTICOS

4.3.1 Definición. Según afirma Parra T.:

Los antibióticos son sustancias producidas por microorganismos o plantas superiores de composición química muy diversa. El concepto central de la acción antibiótica es la toxicidad selectiva, esto es, inhibición selectiva o destrucción del crecimiento del microorganismo patógeno, sin alterar a las células del hospedador. El antibiótico ideal no debería tener ningún efecto indeseable sobre el paciente, solo debería ser letal para el microorganismo patógeno³⁹.

En cuanto a la definición Restrepo afirma, “Un antibiótico se define como una sustancia producida por diferentes microorganismos que suprimen la proliferación o destruyen otros gérmenes. Un quimioterápico [o quimioterapéutico], es una sustancia sintética que suprime o destruye los gérmenes”⁴⁰.

4.3.2 Clasificación por mecanismo de acción. Según Cué y Morejón los antibióticos se clasifican teniendo en cuenta su mecanismo de acción así:

Según el efecto de su acción sobre las bacterias, los antibióticos se clasifican en bacteriostáticos y bactericidas, y depende de si la acción consiste en inhibir el crecimiento o lisis la bacteria, respectivamente.

Esta clasificación es bastante inexacta, pues estos términos varían en dependencia del tipo de germen y de la concentración del antibiótico, como es por ejemplo, el caso del cloramfenicol que se comporta como bacteriostático frente a la *E. coli* y otros microorganismos y como bactericida frente a algunas cepas de *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* y *H. influenzae*. Similar es el caso de la penicilina, la cual es bactericida frente a los cocos grampositivos, con excepción de los enterococos frente a los cuales se comporta como bacteriostático debido a que, a pesar de inhibir la formación de la pared bacteriana, no activa las enzimas autolíticas intrabacterianas; así como frente al *S. pneumoniae*, por un fenómeno de tolerancia, cuando la sepsis es respiratoria, se comporta como bactericida y, sin embargo, cuando es en el sistema nervioso central actúa como bacteriostático, debido a que no se puede

³⁹ PARRA T. Op., cit. p. 20.

⁴⁰ RESTREPO SALAZAR, Juan Gonzalo. Terapéutica veterinaria. Medellín, Colombia. 2006. p. 42.

lograr a ese nivel una concentración bactericida superior a la concentración inhibitoria mínima⁴¹.

Respecto a la clasificación Restrepo⁴², menciona que la más aceptada de acuerdo con el mecanismo de acción es la siguiente:

- 1.) Agentes que alteran la síntesis de la pared bacteriana. En los que encontramos a los β -lactámicos (penicilinas y cefalosporinas); Los monobactámicos (imipenem, aztreonam); Glucopéptidos (vancomicina).
- 2.) Agentes que alteran la permeabilidad de la membrana celular del microorganismo: anfotericina B y polimixina.
- 3.) Agentes que alteran parcialmente la síntesis de proteínas del microorganismo. En donde podemos nombrar a los fenicoles (cloranfenicol y florfenicol); tetraciclinas (oxitetraciclina y tetraciclina); Macrólidos (tilosina y eritromicina); Lincosánidos (clindamicina y lincosamina).
- 4.) Agentes que alteran completamente la síntesis de proteínas del microorganismo: aminoglicósidos (estreptomina y gentamicina).
- 5.) Agentes que alteran la acción de los ácidos nucleicos, entre los que podemos mencionar a las quinolonas (enrofloxacina y ciprofloxacina); novobiocina; rifamicinas; nitrofuranos; nitroimidazoles.
- 6.) Agentes que alteran la vía metabólica del ácido fólico. En donde tenemos a trimetoprim; sulfonamidas; combinación de trimetoprim con sulfas.

4.2.3 Principios de la antibióticoterapia. De acuerdo a Botana:

Los principios de la terapia antibiótica, incluyendo el diseño de regímenes racionales de dosificación, se basan en un triángulo terapéutico que incluye las relaciones entre la bacteria responsable de la infección, el huésped animal enfermo y el fármaco utilizado para tratar la infección⁴³.

⁴¹ CUÉ BRUGUERAS, Manuel y MOREJÓN GARCÍA Moisés. Antibacterianos de acción sistémica. Parte I. antibióticos β -lactámicos. p. 3. [En línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 1, 2007]. Disponible en Internet: <http://scielo.sld.cu/pdf/mgi/v14n4/mgi08498.pdf>

⁴² RESTREPO SALAZAR. Op., cit. p. 42 – 43.

⁴³ BOTANA LÓPEZ, Luís M., Farmacología y terapéutica veterinaria. Madrid, España. 2002. p. 493.

El mismo autor afirma que:

Una vez tomada la decisión, sobre bases fundamentadas, de que la terapia es necesaria, el problema siguiente a resolver es decidir cuál es el fármaco apropiado, a qué dosis debería ser administrado, en que formulación, por qué vía y durante cuánto tiempo.

Para la elección del fármaco y su dosis, el clínico debe equilibrar cuidadosamente los efectos buscados y los efectos indeseables del agente seleccionado. El objetivo fundamental de la terapia es proveer una concentración de fármaco efectiva en el sitio de infección durante un tiempo suficiente para obtener una cura tanto clínica como bacteriológica, evitando al mismo tiempo, tanto como sea posible, la aparición de efectos indeseables⁴⁴.

Restrepo, hablando de la terapia racional con los antibacterianos, afirma que:

Para una terapia racional con antibacterianos, es importante tener un buen diagnóstico, conocer sobre la resistencia o susceptibilidad del microorganismo, conocer sobre las reacciones adversas y toxicidad del medicamento y los costos del mismo. Sin embargo y en la especie que lo permita, debemos tratar de individualizar el tratamiento con base a tres elementos fundamentales:

El conocimiento del agente causante de la infección (se debe identificar, conocer su epidemiología y saber si es susceptible o resistente al medicamento).

El conocimiento del animal que sufre la infección (las características fisiopatológicas).

El conocimiento del medicamento a usar (conocer su farmacocinética, farmacodinamia y espectro)⁴⁵.

4.3.4 Problemática del empleo de antimicrobianos. Como afirma Fabre J⁴⁶, Los antibióticos se han usado en la producción animal como tratamiento y prevención de enfermedades, así como promotor de crecimiento por alrededor

⁴⁴ Ibid. p. 493.

⁴⁵ RESTREPO SALAZAR. Op., cit. p. 43.

⁴⁶ FABRE J.M. 3.2 Maximum residue limit. 2006. p. 1. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: febrero 7 2007]. Disponible en Internet: http://www.dsm.com/le/static/delvotest/downloads/LesRisquesDeResidus_extrait2_En.pdf

de 50 años. La penicilina G fue el primer antibiótico introducido a la medicina veterinaria en 1947 para ser usado en infusiones intramamarias. Desde entonces el uso de los antibióticos se ha convertido en parte integral del manejo de la salud animal en la agricultura.

Poco tiempo después del descubrimiento de los antibióticos, se dedujo que estos últimos podían tener consecuencias tanto en el procesamiento de la leche, como en la salud humana. Al principio, algunos países propusieron la ausencia de residuos detectables de antibióticos. Algunos textos europeos presentaron así el concepto de ausencia de residuos, pero colocaron un límite de 5 partes por billón (ppb), para penicilina en leche. El límite máximo de residuos (MRL) es la concentración máxima de residuos en un producto (leche, carne, huevos), considerada por las autoridades como libre de riesgo sanitario para el consumidor y sin afectar los procesos de manufactura. Este límite no debe ser excedido para alimentos de origen animal.

A continuación se muestra el cuadro 2 que nos indica el MRL permitido por el Códex Alimentarius en Estados Unidos.

Tomando en cuenta lo que afirman Mitchell y Norris⁴⁷, los antibióticos más comúnmente utilizados en los animales de granja pueden ser agrupados en 5 clases. Estas incluyen a los Beta-Lactámicos (por ejemplo penicilinas y cefalosporinas), tetraciclinas (oxitetraciclina, tetraciclina, y clortetraciclina), aminoglicósidos (estreptomina y gentamicina), macrólidos (eritromicina, tilosina) y sulfonamidas (sulfametazina). Un estudio reciente de veterinarios de Estados Unidos reveló que los antibióticos eran las drogas mas a menudo prescritas para las vacas lactantes y la penicilina G era el antibiótico mas empleado, y excepto por la oxitetraciclina, las cinco drogas mas prescritas eran los Beta-Lactámicos aprobados: penicilina G, ceftiofur sódico, cloxacilina, cefapirina y ampicilina.

- **Efectos secundarios de los antimicrobianos.** Respecto a esto Botana expresa que:

Por lo que concierne a los efectos indeseables, existen diferentes preocupaciones relacionadas con: a) los efectos tóxicos dependientes de las dosis sobre las células y los tejidos del huésped; b) la toxicidad idiosincrásica, que es impredecible; c) aquellos efectos adversos que surgen en situaciones especiales, entre ellos por interacción con otros fármacos, en animales viejos o con enfermedades preexistentes

⁴⁷ MITCHELL MARK, NORRIS BRENDA. Testing goat milk for antibiotic residues. Ontario Ministry of agriculture, food and rural affairs. 2005. [En línea]. Pagina web versión HTML. [fecha de consulta: 16 de Febrero 2007]. Disponible en Internet: <http://www.omafra.gov.on.ca/english/livestock/goat/news/dgg0510a4.htm>

(renales, hepáticas); d) la posible aparición de fenómenos de tipo alérgico con la posibilidad de reacciones de tipo anafiláctico en los animales tratados; e) la promoción de resistencia a los antimicrobianos; f) la interferencia en la microflora normal del huésped; y g) la aparición de residuos en tejidos comestibles de los animales para consumo⁴⁸.

Cuadro 2. Ejemplos de MRL en Europa, para el Codex Alimentarius y Para Estados Unidos. (ppb)

Familia	Molécula	Leche		
		MRL Europa	MRL Codex	MRL USA
Antibióticos Beta- Lactámicos	Penicilina G	4	4	5
	Ampicilina	4	-	10
	Cloxacilina	30	-	10
	Oxacilina	30	-	50
	Cefalexina	100	-	-

Fuente: FABRE J.M. Comprendre et prévenir les risques de résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale. 2006.

- **Farmacocinética de los antibióticos en la glándula mamaria.**

En cuanto al comportamiento de los antibióticos en la glándula mamaria Tornadijo, Marra, García, Prieto y Carballo, mencionan que, “El paso de restos a la leche es endógeno; se ha comprobado que la mayor parte de los preparados farmacológicos administrados a las hembras lactantes se segregan con la leche. La cuantía del paso es variable y la duración de la secreción depende del tipo de principio y de la vía de administración”⁴⁹.

Respecto a este tema Magariños menciona que:

Quando se introduce un antibiótico en la ubre, éste se distribuye en el tejido mamario por los conductos galactóforos y es transferido al torrente sanguíneo por un mecanismo físico químico que depende del valor de pKa (valor de disociación) del preparado, valor de pH del plasma sanguíneo, proteína ligada al antibiótico y valor de pH de la leche. Debido a esto, la reabsorción del producto es muy variable de acuerdo al preparado y al animal.

⁴⁸ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 499 – 500.

⁴⁹ TORNADIJO, M. MARRA, A. FONTÁN, M. PRIETO y CARBALLO, J. La calidad de la leche destinada a la fabricación de queso: calidad química. p. 2. [En línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 1 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.geocities.com/CapeCanaveral/Lab/2654/page18d.htm>

De la dosis administrada a la glándula mamaria, una parte es absorbida pasando al torrente sanguíneo, otra es inactivada por la leche y los productos generados por la infección y el resto, que es la mayor parte, es excretada a la leche durante los ordeños posteriores. Existe una correlación negativa entre el tiempo de eliminación del antibiótico y el volumen de leche producido por el animal. Los animales de baja producción demoran en excretar el preparado, principalmente por la mala absorción y secreción de los cuartos afectados. El ordeño frecuente aumenta el efecto de dilución y por lo tanto acorta el tiempo de eliminación del antibiótico.

Por otra parte, no sólo la leche de los cuartos tratados es la que se contamina. Se ha podido comprobar, en algunos casos, actividad antibiótica en los cuartos vecinos no tratados, actividad que permanece, por lo general, durante un período de tiempo igual a la mitad del observado para los tratados. Es posible que esta situación se produzca por difusión pasiva entre la sangre y la leche y también por difusión directa entre los tejidos mamaros.

Debido a que los antibióticos de aplicación intramamaria son de fácil aplicación y generalmente baratos, dado que usualmente no se consulta al médico veterinario para su aplicación, se han hecho muy populares en las explotaciones lecheras y la consecuencia inmediata de esto es su reconocimiento como la principal causa de aparición de residuos de antibióticos en la leche⁵⁰.

En cuanto a los factores que afectan la excreción mamaria de los antibióticos, Parra T., menciona y describe a los siguientes:

El principio activo: las sales benzatínicas de las penicilinas se eliminan por más tiempo (pueden eliminarse hasta por 20 a 30 días en la leche), que las sales sódicas. En los EEUU, la Food and Drug Administration (FDA), no aprueba ninguna penicilina benzatínica, ni para uso inyectable, ni de aplicación intramamaria en vacas lactantes. [...].

El excipiente: los antibióticos en vehículo acuoso se eliminan más rápido que los de vehículo oleoso. Una penicilina procaínica en vehículo oleoso, tendrá una duración de excreción de 125%, mayor que la misma penicilina en medio acuoso.

La dosis: para una penicilina procaínica, una aplicación intramuscular que pase de 3 a 6 millones de UI, incrementa la excreción en 33%.

⁵⁰ MAGARIÑOS, Harnoldo. Op., cit. p. 65.

La vía de administración: la administración mamaria tiene una duración de excreción mayor que la vía intramuscular. Los antibióticos aplicados vía intramamaria se eliminan por los 4 cuartos mamarios.

Existen algunos reportes de que 61% de los casos positivos a residuos en leche, se deben al uso de antibióticos intramamarios, en mastitis clínicas; 31% a tratamientos intramamarios en período fuera de lactancia (tratamientos para vaca seca); 6% a inyectables, y 1% a otras causas [...].

Igualmente, las aplicaciones de antibióticos intrauterinos, producen residuos en la leche. La administración vía oral, puede generar residuos dependiendo del metabolismo del antibiótico, y de su absorción por la mucosa intestinal [...].

La duración del tratamiento: siempre el tiempo de retiro para los antibióticos y demás medicamentos, debe ser durante, y con base en el último tratamiento [...] ⁵¹.

4.3.5 Antibióticos β -lactámicos. De acuerdo con la página de Internet Wikipedia ⁵², se define a los antibióticos β -lactámicos como antibióticos de amplio espectro, en los que se incluyen los derivados de la penicilina, y las cefalosporinas además de todos los compuestos que contengan un núcleo β -lactámico en su estructura molecular. Se menciona también que son el grupo de antibióticos disponible más ampliamente usado.

• **Características generales.** En cuanto a las características generales Botana afirma que:

[...] es uno de los grupos mejor conocidos y ampliamente utilizados tanto en medicina humana como veterinaria. Su utilidad y popularidad se debe a su escasa toxicidad, alta eficacia (aunque algunos de los miembros de este grupo carecen de eficacia frente a bacterias resistentes), bajo coste y disponibilidad de una amplia gama de formas farmacéuticas. También se debe a que la penicilina, abanderado de este grupo, fue el primer antibiótico descubierto y manufacturado comercialmente ⁵³.

⁵¹ PARRA T. Op., cit. 38-39.

⁵² WIKIPEDIA, The free encyclopedia. Beta-lactam antibiotic. [En línea]. Pagina web versión HTML. [fecha de consulta: septiembre 18 de 2007]. Disponible en Internet: http://en.wikipedia.org/wiki/Beta-lactam_antibiotic

⁵³ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 455.

Hablando de la estructura química característica de los β -láctamicos, Marín y Gudiol mencionan que, “La presencia de un anillo betalactámico define químicamente a esta familia de antibióticos, de la que se han originado diversos grupos: penicilinas, cefalosporinas, carbapenemas, monobactamas e inhibidores de las β -lactamasas”⁵⁴.

En cuanto a la estructura química Botana explica, “La estructura química general de las penicilinas está compuesta por un anillo de tiazolidina de 5 átomos de carbono unido al grupo activo β -lactámico. Las cefalosporinas se desarrollan a partir de un anillo de dihidrotiazina de 6 átomos de carbono. Los monobatámicos poseen un solo anillo”⁵⁵.

- **Mecanismo de acción.** En cuanto al mecanismo de acción de los β -láctamicos, Marín y Gudiol afirman que:

Los antibióticos β -lactámicos son agentes bactericidas que inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana e inducen además un efecto autolítico. La destrucción de la pared celular bacteriana se produce como consecuencia de la inhibición de la última etapa de la síntesis del peptidoglucano. En las bacterias grampositivas, la pared celular es gruesa y su componente principal es dicha proteína. Las bacterias gramnegativas tienen una pared más fina y compleja que consta de una membrana externa formada por lípidos y proteínas y de una delgada capa interna de peptidoglucano. Las bacterias ácido-alcohol resistentes tienen una pared similar a la de los microorganismos grampositivos, pero con una capa de peptidoglucano fina y, por fuera, una capa muy rica en lípidos.

El peptidoglucano está constituido por largas cadenas de glúcidos (-glucano), formadas por la repetición de moléculas de ácido *N*-acetilmurámico y *N*-acetilglucosamina. El ácido murámico fija cadenas de tetrapéptidos (péptido-) que se unen entre sí para formar una malla, bien directamente (gramnegativos) o mediante un pentapéptido de glicina (grampositivos). Los β -lactámicos inhiben precisamente esta unión o transpeptidación, última etapa de la síntesis de la pared celular. De este modo, la pared queda debilitada y puede romperse por la presión osmótica intracelular. Para que actúen los β -lactámicos es

⁵⁴ MARÍN, Mar, GUDIOL, Francesc. Antibióticos β -lactámicos. p. 1. [En línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 1 de 2007]. Disponible en Internet: http://external.doyma.es/espacioformacion/eimc/eimc_docs/28v21n01a13042137pdf001.pdf

⁵⁵ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 456.

necesario que la bacteria se halle en fase de multiplicación, ya que es cuando se sintetiza la pared celular⁵⁶.

En cuanto al mecanismo de acción Botana también menciona que:

Los antibióticos β -lactámicos actúan sobre unas enzimas de la pared bacteriana que se conocen como proteínas ligadas a la penicilina o PLP. Existen diferentes clases de PLP en cada especie bacteriana, habitualmente entre 2 y 8 tipos diferentes. Algunas de estas proteínas son transpeptidasas y su misión es mantener íntegra la pared celular. Otras PLP son endopeptidasas y carboxipeptidasas. La pared celular de las bacterias tiene una naturaleza heteropolimérica. Está compuesta por cadenas de glucanos que son fibras lineales con unidades alternas de N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico unidas lateralmente y entre las que se cruzan fibras peptídicas cortas que se las unen de forma cruzada.

En general, el entrecruzamiento se caracteriza por el establecimiento de un puente de pentaglicina entre un residuo D-alanina del ácido N-acetilmurámico de una fibra y uno L-lisina de la fibra siguiente.

La reacción de transpeptidación es la responsable del entrecruzamiento de las fibras peptídicas para dar lugar a una estructura entrecruzada que confiere a la pared bacteriana la estabilidad necesaria. La inhibición por parte de la penicilina de la acción de las transpeptidasas catalizadoras de esta reacción da lugar a una pared celular débil, que no puede soportar la presión del medio interior bacteriano y se rompe durante el proceso de división celular, conduciendo a la bacteriólisis⁵⁷.

Marín y Gudiol afirman también que:

Los β -lactámicos también actúan activando una autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglicano. La lisis se produce con concentraciones que superan entre 4 y 10 veces la CMI de un determinado microorganismo. Las bacterias que carecen de autolisina son inhibidas pero no destruidas, por lo que se dice que son tolerantes. Se define el fenómeno de tolerancia como la necesidad de una concentración al menos 32 veces mayor a la CMI para que un antimicrobiano destruya una cepa bacteriana⁵⁸.

⁵⁶ MARÍN y GUDIOL. Op., cit. p. 5.

⁵⁷ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 456.

⁵⁸ MARÍN y GUDIOL. Op., cit. p. 5.

- **Mecanismos de resistencia.** Respecto a esto Botana⁵⁹, menciona que los mecanismos de resistencia más comunes son cuatro, entre los que tenemos: Impermeabilidad de la membrana externa de la bacteria al antibiótico, generando resistencia innata; Modificación de las proteínas ligadas a la penicilina, que puede generar una disminución en la afinidad del antibiótico por estas proteínas desarrollando la resistencia; Producción de β -lactamasas, que son enzimas que tienen la capacidad de hidrolizar la unión cíclica amídica en la estructura de los antibióticos β -lactámicos.

Además Marín y Gudiol⁶⁰, mencionan a la expresión de bombas de eliminación activa como un mecanismo adicional de resistencia a los antibióticos β -lactámicos, ya que estas consisten en bombas de flujo, dependientes de energía, que bombean al antimicrobiano al exterior. Además los mismos autores mencionan que este mecanismo se ha demostrado en ciertos bacilos gramnegativos, especialmente en *P. aeruginosa*.

- **Farmacocinética.** En cuanto a la farmacocinética de los antibióticos β -lactámicos, Botana menciona que:

Los antibióticos β -Lactámicos son ácidos orgánicos débiles formulados habitualmente como sales de sodio o potasio. Aparte de las cefalosporinas formuladas para administración oral, la penicilina V, las aminopenicilinas, y las penicilinas isoxazólicas (p. ej., cloxacilina), estos fármacos se administran por vía parenteral, debido a su fácil desactivación por hidrólisis en el medio ácido gástrico. Tras la administración oral de bencilpenicilina sólo se absorbe un 15-30%, porcentaje que se reduce aún más en presencia de alimento⁶¹.

En cuanto a la farmacocinética Marín y Guidol afirman sobre los β -lactámicos que:

Mediante la administración intravenosa suelen alcanzarse con rapidez concentraciones plasmáticas elevadas. Las penicilinas procaína y benzatina se depositan a nivel muscular y se reabsorben lentamente; la administración intramuscular de ceftriaxona consigue concentraciones plasmáticas elevadas, con niveles terapéuticos durante 24 h. Las sustancias nativas se absorben poco o nada por vía digestiva, mientras que la absorción de algunos derivados sintéticos y semisintéticos es

⁵⁹ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 457.

⁶⁰ MARÍN y GUDIOL. Op., cit. p. 6.

⁶¹ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 458.

mejor (amoxicilina, cloxacilina, cefalosporinas orales). En la sangre circulan como sustancias libres o unidas a las proteínas plasmáticas, relacionándose esta unión con la semivida del antibiótico; sólo la fracción libre es activa y capaz de penetrar al espacio extracelular. Poseen una amplia distribución corporal, con valores séricos y tisulares adecuados, incluyendo bilis y líquido sinovial; cuando existe inflamación del líquido cefalorraquídeo (LCR), la penetración a través de la barrera hematoencefálica aumenta hasta el 10-30%, siendo especialmente elevada para la cloxacilina y las cefalosporinas de tercera y cuarta generación. Al tratarse de sustancias poco lipofílicas, su penetración intracelular es escasa, no alcanzando casi nunca concentraciones mayores del 25-50% de las concentraciones plasmáticas.

El metabolismo de la mayoría de β -lactámicos es casi nulo, manteniéndose en forma activa hasta su eliminación renal. En algunos preparados predomina la excreción por vía biliar (cefoperazona, ceftriaxona). Muy pocos sufren metabolismo, como la desacetilación (cefalotina, cefotaxima) o la inactivación por las hidroxipeptidasas renales (imipenem)⁶².

- **Farmacodinamia.** Según Botana⁶³, se habla que los antibióticos β -lactámicos presentan un efecto antibacteriano dependiente del tiempo superando la concentración mínima inhibitoria, se habla que la existencia de intervalos de tiempo con niveles bajos de penicilina disminuye la eficacia, y que la misma dosis diaria aplicada en dosis más frecuentes es más eficaz que utilizando intervalos mayores entre dosis sucesivas. También se menciona que la duración de la concentración de la penicilina por encima de la concentración mínima inhibitoria para un patógeno en especial se relaciona con la eficacia del fármaco.
- **Penicilinas.** De acuerdo a Malabran⁶⁴, las penicilinas actúan infiriendo la síntesis de la pared bacteriana. Son bactericidas, en las dosis adecuadas y bacteriostáticas en bajas concentraciones. En cuanto a su excreción presentan muy poco metabolismo en el cuerpo, en donde el 90% de su excreción se

⁶² MARÍN y GUDIOL. Op., cit. p. 4-5.

⁶³ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 459.

⁶⁴ MALABRAN G., Carlos. Métodos estandarizados para la determinación de la sensibilidad antimicrobiana en bacterias aisladas de animales. 2001. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: febrero 16 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.cdc.gov./ncidod/dbmd/gss/publications/documents/ArgentinaLevell/CIM_AT_B_ANIMAS

realiza por secreción tubular renal, siendo excretadas como un compuesto activo. Dentro de las reacciones adversas que menciona el autor tenemos a la anafilaxia, como una reacción inmunomediada.

Teniendo en cuenta lo que menciona el Departamento de farmacología y terapéutica de la facultad de medicina⁶⁵, de la Universidad autónoma de Madrid tenemos que dentro de sus características químicas las penicilinas son sustancias de carácter ácido, también llamadas β -lactaminas en razón de poseer en su molécula un anillo beta lactámico. Haciendo referencia al espectro antimicrobiano de las penicilinas en el mismo documento se menciona también que la Penicilina G es efectiva contra cocos Gram (+), cocos Gram (-), bacilos Gram (+) aerobios y anaerobios, *Treponema pallidum* y *Actinomicetes*.

De acuerdo a lo mencionado por Dr. MSc. Núñez F., las penicilinas se pueden clasificar como se muestra en el cuadro 3.

○ **Bencilpenicilina (penicilina G) y penicilina V.** teniendo en cuenta lo mencionado por Gómez, Pérez, Blanco, Morán y Hurtado:

La penicilina G o bencilpenicilina es la primera penicilina natural. Es inestable en medio ácido, por lo que se administra por vía parenteral (intramuscular o intravenosa) en forma de sales: penicilina G sódica, penicilina G potásica y penicilina G cálcica.

Estas sales tienen una vida media muy corta, por lo que se han preparado otras sales de acción retardada en las que la penicilina G está asociada a procaína o benzatina. Estas formas retardadas son de administración intramuscular y posibilitan que la penicilina se absorba más lentamente, consiguiéndose niveles séricos más mantenidos. También son formas de penicilina G de acción retardada la penicilina G benetamina y la penicilina G clemizol. Al igual que las formas con procaína o benzatina, son de aplicación intramuscular, pero su uso está poco generalizado [...]⁶⁶.

⁶⁵ DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA Y TERAPÉUTICA DE LA FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MADRID. Penicilinas. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.uam.es/departamentos/medicina/farmacologia/especifica/F_General/FG_T6_2.pdf

⁶⁶ GÓMEZ GARCÍA, A. C., PÉREZ GIRALDO, C., BLANCO ROCA, M. T., MORÁN DOMÍNGUEZ F. J., HURTADO MANZANO, C. Penicilinas. 1998. p. 4. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.sepeap.es/libros/MEDICINE98/Artikulu/m8003.pdf>

Cuadro 3. Clasificación de las penicilinas.

Familia	Antibiótico
PENICILINAS NATURALES	Penicilina G sódica
	Penicilina G benzatínica
	Penicilina G procaínica
	Penicilina G clemizol
	Penicilina V
PENICILINAS SEMISINTÉTICAS	
Aminopenicilinas	Ampicilina
	Amoxicilina
Penicilinas isoxazólicas	Oxacilina
	Dicloxacilina
	Flucloxacilina
	Meticilina
	Nafcilina
Carboxi-penicilinas	Carbenicilina
	Ticarcilina
ureidopenicilinas	piperacilina

Fuente: DR. MSC. NÚÑEZ FREILE, Byron. Uso racional de los antibióticos

- **Aminopenicilinas.** Respecto a las aminopenicilinas Botana afirma:

Las aminopenicilinas se han convertido con los años en fármacos de uso popular en medicina veterinaria debido a su mayor espectro de actividad, que incluye gérmenes grampositivos y gramnegativos, a su facilidad para la administración oral, bajo coste y ausencia prácticamente de toxicidad. En este grupo de fármacos se incluyen la amoxicilina, la ampicilina y los ésteres profármaco hetacilina, pivampicilina, bacampicilina y talampicilina⁶⁷.

Sobre este grupo de penicilinas Gómez García, A. C., Pérez Giraldo, C., Blanco Roca, M. T., Morán Domínguez F. J. y Hurtado Manzano, C⁶⁸. afirman que se consideran a las aminopenicilinas como las penicilinas de espectro. Se dice también que son antibióticos semisintéticos formados al introducir un grupo amino en la posición a de la cadena lateral de la penicilina G. se menciona que esta modificación conlleva una mayor estabilidad al pH ácido y mayor actividad sobre bacterias gramnegativas, manteniendo a la vez la eficacia sobre bacterias grampositivas. No obstante, sobre estas últimas su eficacia es un

⁶⁷ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 461.

⁶⁸ GÓMEZ GARCÍA, A. C., PÉREZ GIRALDO, C., BLANCO ROCA, M. T., MORÁN DOMÍNGUEZ F. J., HURTADO MANZANO, C. Op., cit. p. 6-7.

poco menor que la penicilina G, excepto en lo que se refiere a *Enterococcus*. Se habla también sobre algunos casos de resistencia a estos fármacos por la producción de β -lactamasas, para obviar este problema, algunas de ellas (amoxicilina y ampicilina) pueden utilizarse asociadas a inhibidores de las β -lactamasas (la amoxicilina al ácido clavulánico y la ampicilina al sulbactam). La primera aminopenicilina desarrollada fue la ampicilina. Posteriormente fueron introduciéndose en clínica otras aminopenicilinas de estructura relacionada (amoxicilina, ciclacilina y epicilina), así como condensados de ampicilina (hetacilina, metampicilina) y ésteres de ampicilina (bacampicilina, pivampicilina, talampicilina y lenampicilina). Todas las aminopenicilinas tienen unas propiedades antibacterianas similares, sin que existan diferencias importantes entre ellas. Igual que ampicilina y amoxicilina, las restantes aminopenicilinas tampoco son estables a las β -lactamasas. Las diferencias entre las componentes de este grupo son fundamentalmente de tipo farmacocinético.

Núñez F., menciona sobre las aminopenicilinas que, “son útiles en infecciones graves en combinación con aminoglucósidos y nitroimidazoles. Son antibióticos de elección en infecciones respiratorias altas y bajas, otitis media, sinusitis, [...] Infecciones de vías urinarias altas y bajas. Infecciones por enterococos”⁶⁹.

○ **Penicilinas antiestafilocócicas o penicilinas isoxazólicas.** De este grupo Botana afirma que:

Este grupo lo integran las isoxazolilpenicilinas (cloxacilina, dicloxacilina, oxacilina, y los derivados sintéticos meticilina y nafcilina). La característica definitoria de este grupo es su resistencia a la β -lactamasa de *S. aureus*, por lo que se utiliza fundamentalmente en el tratamiento de infecciones causadas por este microorganismo, en especial la mastitis bovina y por vía intramamaria. Carecen de actividad frente a los microorganismos gramnegativos, porque no atraviesan bien la membrana externa de estos últimos⁷⁰.

En cuanto al uso el Núñez F.⁷¹ afirma sobre las penicilinas isoxazólicas que tienen una excelente indicación en el tratamiento de infecciones provocadas por cocos grampositivos sensibles, como estafilococos productores de penicilinasas y que se las recomienda en infecciones de piel y tejidos blandos, sepsis o neumonía estafilocócica.

⁶⁹ DR. MSC. NÚÑEZ FREILE, Byron. Uso racional de los antibióticos. p. 4. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: <http://virtual.unipar.br/courses/CL/document/penicilinas3.pdf?cidReq=CL>

⁷⁰ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 462.

⁷¹ DR. MSC. NÚÑEZ FREILE. Op., cit. p. 4.

- **Penicilinas antipseudomonas.** Casanova C., afirma al respecto de este grupo que:

Aunque son tres grupos diferentes, a estos β -lactámicos se los conoce como penicilinas antipseudomonas por su espectro tan específico contra la *Pseudomonas aeruginosa*. La primera carboxipenicilina fue la carbenicilina la cual aminoró en grado extraordinario la tasa de mortalidad en pacientes infectados por esta bacteria; desafortunadamente, al poco tiempo se observó una resistencia cada vez mayor no sólo a la *Pseudomonas aeruginosa*, sino a otras bacterias. [...] Posteriormente, dentro de este mismo grupo surgió la ticarcilina sódica, sustancia que ahora sólo se encuentra disponible en asociación con un inhibidor de β -lactamasas. El segundo grupo, las ureidopenicilinas, representada por la piperacilina, sólo se encuentra disponible en asociación con un inhibidor de β -lactamasas, pues también salió del mercado⁷².

En cuanto al mismo grupo Botana⁷³, afirma que de entre las carboxipenicilinas y las ureidopenicilinas, las últimas pueden además de resistir la acción inactivadora de las β -lactamasas de algunos microorganismos gramnegativos y muestran un amplio espectro de proteínas ligadas a la penicilina (PLP). El mismo autor menciona a los fármacos que representan a cada grupo siendo para las carboxipenicilinas: carbenicilina, ticarcilina; y para las ureidopenicilinas: piperacilina, azlocilina y mezlocilina.

- **Cefalosporinas.** Según el artículo de la página de Internet del bgb-biogen GmbH se afirma sobre las cefalosporinas lo siguiente:

En 1945, Giuseppe Brotzu inició sus investigaciones en busca de microorganismos productores de antibióticos, aislando un hongo en el mar, el *Cephalosporium acremonium*, primera fuente de cefalosporinas, cerca de un desagüe cloacal en las afueras de Cagliari, en Cerdeña. Pudo observar que los filtrados del cultivo de este hongo inhibían «*in vitro*» el crecimiento del *Staphylococcus Aureus* y curaba las infecciones estafilocócicas y la fiebre tifoidea en el hombre. En 1948, Abraham, en Oxford, Inglaterra, pudo comprobar que en estos cultivos existían tres

⁷² CASANOVA CARDIEL, Luís. Carboxipenicilinas, ureidopenicilinas y sulfopenicilinas. p. 1. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.conapeme.org.mx/manual_antibióticos/carboxipenicilinas.pdf

⁷³ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 462.

antibióticos diferentes denominados cefalosporinas P, N y C. Una vez aislado el núcleo y mediante el agregado de cadenas laterales fue posible producir compuestos, a partir de la cefalosporina C, que tuvieron una actividad superior a la de la sustancia original⁷⁴.

Coria L., nos habla de este grupo de antibióticos así:

El grupo de antibióticos β -lactámicos que más se ha diversificado y utilizado en la terapéutica anti infecciosa es el de las cefalosporinas, las cuales, por razones comerciales, se les ha clasificado de la primera a la cuarta generación. Las cefalosporinas de primera generación son para grampositivos; las de segunda generación son más equilibradas y tienen acción sobre grampositivos y negativos. Las de tercera y cuarta generación están más orientadas hacia gramnegativos. Al igual que la mayoría de los antibióticos β -lactámicos tienen actividad bactericida con excelente penetración, absorción y concentración en tejidos y sangre⁷⁵.

Respecto a las cefalosporinas Botana⁷⁶, menciona que dentro de los usos más comunes para estos antibióticos tenemos a las infecciones de la piel, el tracto urinario, los huesos y los tejidos blandos, además de la profilaxis quirúrgica.

En cuanto a algunas de las características farmacológicas y reacciones adversas generales de las cefalosporinas, en el artículo de la página de Internet de BGB-BIOGEN GMBH⁷⁷, se menciona que algunas de las cefalosporinas pueden ser absorbidas por vía oral como la cefalexina, el cefadroxilo, el cefaclor, la cefuroxima y la cefixima; mientras que el resto de las cefalosporinas deben ser administradas por vía parenteral, teniendo muy en cuenta que la cefalotina y cefapirina son dolorosas cuando se aplican por la vía intramuscular, por lo que únicamente se deben emplear por la vía intravenosa. Es importante mencionar que la mayoría de las cefalosporinas son excretadas por los riñones aunque fármacos como la cefoperazona y la ceftriaxona son excretadas principalmente por el hígado.

Dentro de las reacciones adversas en el mismo artículo se menciona que:

⁷⁴ BGB-BIOGEN GMBH. Cefalosporinas. [En línea]. Página web versión Html. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.dic.org.ar/enfpleu/epp099.php#7.4.3>.

⁷⁵ CORIA LORENZO, José de Jesús. Cefalosporinas. p. 1. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.conapeme.org.mx/manual_antibióticos/cefalosporinas.pdf

⁷⁶ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 464.

⁷⁷ BGB-BIOGEN GMBH. Op., cit. p. 1

Luego de la administración intravenosa, todas las cefalosporinas pueden producir tromboflebitis. Los efectos secundarios sistémicos mas frecuentes son las reacciones de hipersensibilidad. Se han registrado reacciones inmediatas de anafilaxia, broncoespasmo y urticaria. Comúnmente los pacientes desarrollan una erupción maculopapular [...] Se han descrito casos de fiebre y adenopatías sin otra manifestación alérgica. Las reacciones alérgicas a los fármacos en general son tres veces mas frecuentes en pacientes con alergia a la penicilina. Se han observado reacciones alérgicas a las cefalosporinas en pacientes que lo son a la penicilina, si bien no se dispone de mecanismos idóneos para la predicción exacta de reacciones alérgicas cruzadas. Por lo tanto, el uso de cefalosporinas en pacientes alérgicos a la penicilina debe estar guiado por la severidad de la alergia, la disponibilidad de antibióticos y el juicio clínico⁷⁸.

- **Cefalosporinas de primera generación.** En cuanto a las cefalosporinas de primera generación Botana, menciona que:

Este subgrupo incluye cefadroxilo, cefazolina, cefalexina, cefaloglicina, cefalotina, cefapirina y cefradina. Las cefalosporinas de primera generación tienen la máxima actividad entre todas las cefalosporinas frente a bacterias grampositivas, entre las que incluyen *Streptococcus*, *Coruynebacterium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* (microorganismo típico de las infecciones cutáneas), y otros estafilococos productores de β -lactamasas⁷⁹.

En cuanto a este grupo Coria L menciona: “Las cefalosporinas de primera generación son antibióticos de espectro selectivo para cocos grampositivos y tienen actividad bactericida con excelente penetración, absorción y concentración en tejidos y sangre”⁸⁰.

- **Cefalosporinas de segunda generación.** En otro artículo de la página de Internet de BGB-BIOGEN GMBH, se afirma que: “Son mas potentes que las de primera generación contra *Escherichia coli*, *Klebsiella* y *Proteus* indol negativo. Extienden el espectro a *Haemophilus influenzae*, *Enterobacter*,

⁷⁸ Ibid. p. 1.

⁷⁹ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 464.

⁸⁰ CORIA LORENZO. Op., cit. p. 1.

Proteus indol positivos, anaerobios, *Neisseria meningitidis* y *Neisseria gonorrhoeae*. Ninguno de estos agentes es efectivo contra *Pseudomonas*⁸¹.

De acuerdo con Calderón J. se menciona sobre las cefalosporinas de segunda generación que, “Las también denominadas cefemas, son antibióticos β -lactámicos con un espectro mayor que sus congéneres de primera generación y abarcan grampositivos y gramnegativos. [...] Como todos los beta lactámicos, tienen actividad bactericida con excelente penetración, absorción y buena concentración en tejidos y sangre”⁸².

Sobre este grupo para medicina veterinaria Botana menciona que, “Este subgrupo incluye cefaclor, cefamandol, cefmetazol, cefonicid, cefotetán, cefoxitina, cefproxilo y cefuroxima. [...] Poseen mayor resistencia frente a las β -lactamasas bacterianas y atraviesan mejor la capa externa de los microorganismos gramnegativos”⁸³.

○ **Cefalosporinas de tercera generación.** Respecto a este subgrupo Botana menciona que:

Incluyen cefixima, cefoperazona, cefpodoxima, ceftazidima, moxalactam, cefotaxima, ceftiozoxima, ceftriaxona, y ceftiofur. Las cefalosporinas de tercera generación son las más eficaces frente a bacterias gramnegativas resistentes a otros antibióticos. Solo la ceftazidima y la cefoperazona poseen buena actividad frente a las pseudomonas, en particular la primera⁸⁴.

Respecto a las cefalosporinas de tercera generación se menciona en el artículo de la página de Internet de BGB-BIOGEN GMBH, lo siguiente:

Son las que presentan el espectro mas amplio y la mayor actividad contra los bacilos Gram- negativos. Pueden dividirse en dos tipos, de acuerdo a su actividad contra *Pseudomonas aeruginosa*.

⁸¹ BGB-BIOGEN GMBH. Infecciones pulmonares. [En línea]. Página web versión Html. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.dic.org.ar/enfpleu/epp100.php#7.4.3.1>.

⁸² CALDERON JAIMES, Ernesto. Cefalosporinas de segunda generación. p. 3. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.conapeme.org.mx/manual_antibióticos/cefalosporinas.pdf

⁸³ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 464.

⁸⁴ Ibid. p. 465.

Así, cefotaxima, ceftizoxima, ceftriaxona, moxalactam y la cefixima, esta última por vía oral, tienen poca actividad contra *Pseudomonas aeruginosa*. Por el otro lado, ceftazidime y cefoperazona tienen actividad anti *Pseudomonas aeruginosa*⁸⁵.

- **Cefalosporinas de cuarta generación.** Teniendo en cuenta lo mencionado por Ortiz I., se menciona que, “surgen como una respuesta a la creciente resistencia bacteriana en los nosocomios [...] Son antibióticos β -lactámicos bactericidas con amplio espectro hacia gramnegativos”⁸⁶.

De acuerdo a Botana:

Existe una cuarta generación de cefalosporinas integrada por un miembro, la cefapima. Aunque su uso no se ha documentado aún en medicina veterinaria, este fármaco, solo disponible en forma inyectable, amplía el espectro de acción de las cefalosporinas de tercera generación a la mayoría de grampositivos y gramnegativos, incluyendo *Pseudomonas* y *Enterobacter*. Su principal diferencia con las cefalosporinas de tercera generación es su mayor resistencia a las β -lactamasas⁸⁷.

4.4 SALUD PÚBLICA

4.4.1 Implicaciones para la salud pública. De acuerdo a Parra:

Aunque los residuos solo se encuentren en los alimentos en muy baja concentración, es posible que la ingestión regular de pequeñas cantidades, de una misma sustancia, pueda determinar manifestaciones tóxicas, a largo plazo, por efectos acumulativos. Los efectos tóxicos pueden agruparse en directos e indirectos. Son efectos directos, aquellos producidos por la utilización de antibióticos, en condiciones terapéuticas. Se manifiestan en variadas formas clínicas como: toxicidad en riñón, hígado, sangre, médula, oído, efectos teratogénicos, carcinogénicos y alergias graves. Los efectos indirectos son los asociados a los fenómenos de resistencia bacteriana y a las reacciones alérgicas. Además, los antibióticos presentes en la leche pueden inducir

⁸⁵ BGB-BIOGEN GMBH. Op., cit. 1.

⁸⁶ ORTIZ IBARRA, Javier. Cefalosporinas de cuarta generación. p. 5. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.conapeme.org.mx/manual_antibióticos/cefalosporinas.pdf

⁸⁷ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 465.

alteración de la flora intestinal, desarrollo de microorganismos patógenos y reducción de la síntesis de vitaminas. La resistencia bacteriana es un problema ecológico, pues las cepas resistentes a antimicrobianos, no solamente afectan a los individuos que están siendo tratados, sino que también afectan a los individuos que comparten el mismo ambiente⁸⁸.

4.4.2 Efectos sobre la salud pública. Teniendo en cuenta lo mencionado por Mcdermott, Zhao, Wagner, Simjee, Walker, y White⁸⁹, podemos clasificar a dichos efectos sobre la salud pública en efectos directos, como lo es la toxicidad directa; y efectos indirectos como lo son la resistencia bacteriana, las alergias y la alteración de la flora intestinal.

- **Efectos Directos.** Teniendo en cuenta a los anteriormente mencionados autores tenemos que:

En el caso de la toxicidad directa el reporte mas frecuentemente mencionado de toxicidad es el relacionado a la presencia de cloranfenicol. Hoy en día el cloranfenicol es el antibiótico mas estudiado por los planes de vigilancia. Aunque su toxicidad inherente se ha dramatizado por diferentes razones, este antibiótico posee posibilidades inmunotóxicas y genotóxicas leves. La inmunotoxicidad aunque rara, es fatal en los seres humanos (anemia aplástica), y no se ha probado aun una relación dosis efecto (lo que no implica que no la exista). Recientemente se ha resaltado que el uso terapéutico del cloranfenicol en los humanos como un colirio (equivalente a 10 mg por dosis, al inicio de los casos que se conocen), crean menos de una reacción al año en el mundo. La absorción sistémica desde el ojo es muy baja. Está estimada por debajo del 1% de la dosis, la cantidad absorbida por el organismo puede ser evaluada aproximadamente a un nivel máximo de 100 microgramos, equivalentes a una dosis por encima de las dosis residuales ingeridas en alimentos contaminados. A pesar de la posible genotoxicidad del cloranfenicol, experiencias in vivo con roedores, mostraron efectos genotóxicos bajos. De todas formas las dosis empleadas superaban 25 veces las dosis terapéuticas⁹⁰.

⁸⁸ PARRA T. Op., cit. p. 23.

⁸⁹ MCDERMOTT PF, ZHAO S, WAGNER DD, SIMJEE S, WALKER RD, WHITE DG. The food safety perspective of antibiotic resistance. 2002. p. 71-84. [en línea]. Archivo web versión HTML. [fecha de consulta: marzo 26 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?itool=abstractplus&db=pubmed&cmd=Retrieve&dopt=abstractplus&list_uids=12212946

⁹⁰ Ibid. p. 1

- **Efectos indirectos.**

- **Resistencia bacteriana.** Mcdermott, Zhao, Wagner, Simjee, Walter, White, mencionan que:

Las cepas bacterianas resistentes a antibióticos son una amenaza en aumento tanto para la salud animal como para la salud humana, con mecanismos de resistencia identificados y descritos para todos los antibióticos conocidos y disponibles para el uso clínico. Hay un creciente interés en la administración de microbianos en dosis y sub-dosis terapéuticas a los animales, debido primariamente a la diseminación de múltiples bacterias resistentes de carácter zoonótico⁹¹.

Levy menciona también que:

La resistencia a los antibióticos se ha convertido en un problema clínico y de salud pública dentro de la vida de la mayoría de las personas hoy en día. Confrontándose con el aumento de la variedad de antibióticos en los ya pasados 60 años, las bacterias han respondido con la propagación de una progenie que no es susceptible a ellos. Mientras esta claro que la selección bacteriana de la resistencia es aleatoria, la expansión de los genes de resistencia o bacterias resistentes también contribuye al problema. La selección de formas resistentes puede ocurrir durante o después del tratamiento antimicrobiano ya que los residuos antibióticos se pueden encontrar en el ambiente por largos periodos después del tratamiento⁹².

⁹¹ Ibid. p. 1

⁹² LEVY, Stuart B. Factors impacting on the problem of antibiotic resistance. The 2000 Garrod Lecture. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2002. p. 25. [en línea]. Archivo web versión PDF. [fecha de consulta: marzo 26 de 2007]. Disponible en Internet: <http://jac.oxfordjournals.org/cgi/reprint/49/1/25?maxtoshow=&HITS=10&hits=10&RESU LTFORMAT=&fulltext=antibiotic+residues&searchid=1&FIRSTINDEX=0&resourcetype =HWCIT>

- **Alergias.** Del texto de Fabre J⁹³, se puede afirmar que se sabe que la presentación de alergias en las personas tratadas con antibióticos no es rara. Ya que los antibióticos y algunos fármacos antiinflamatorios son las moléculas que se encuentran bajo mayor observación e investigación por su efecto alergénico en los seres humanos. De entre los antibióticos los más mencionados por haber provocado alergias en medicina humana son: amoxicilina, trimetoprim sulfam, ampicilina, cefalosporinas, eritromicina, penicilina G, así como la estreptomina y en una menor proporción la neomicina, los nitrofuranos, la novomicina y las tetraciclinas. Muchos de estos antibióticos relacionados con las alergias en los seres humanos también se emplean en las granjas frecuentemente, es por esto que hay un riesgo potencial de alergias en el caso de ingestión de alimentos con residuos. En realidad este riesgo existe principalmente con las penicilinas, que de entre todos los antibióticos son las más inmunogénicas y además las más frecuentemente empleadas. Relacionar una reacción alérgica a la presencia de residuos en los alimentos es complicado, además el número de alergias por residuos que se conocen son muy limitadas. Es por esto que se realizaron pruebas en voluntarios humanos, que se sabía eran alérgicos a la penicilina, esto para estudiar las consecuencias de consumir alimentos con residuos. Se adicionaron 75 microgramos por litro de penicilina G (más de 18 veces el MRL), y se administró la mezcla a 13 voluntarios alérgicos: solo 4 de ellos presentaron reacciones positivas (urticaria), 3 presentaron reacciones inciertas y 6 no presentaron reacción alguna. En otra prueba, nueve voluntarios alérgicos a la penicilina G, fueron tratados con carne de cerdo contaminada con 6 microgramos del antibiótico. Dos de ellos presentaron sensaciones de comezón.

En artículo de Calvino se menciona que:

Los seres humanos expuestos a antibióticos en la leche podrían padecer problemas alérgicos. El interés en esta área se ha centrado en la penicilina, por la posibilidad que la exposición a ésta a través de la leche pueda llevar al desarrollo de hipersensibilidad o estimular respuestas alérgicas en individuos previamente sensibilizados. Con los actuales conocimientos sobre los mecanismos de alergia, la posibilidad de que se presente el primer caso parece remota. La sensibilización primaria sigue usualmente a la administración parenteral y es inusual que se produzca luego de la terapia oral con penicilina. No obstante, el riesgo para los individuos previamente alérgicos no puede ser descartado. Aunque la penicilina consumida en leche puede estimular la aparición de

⁹³ FABRE J.M. 2.4. Risks related to the presence of antibiotic residues in food. 2006. p. 3. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: febrero 7 2007]. Disponible en Internet: http://www.dsm.com/le/static/delvotest/downloads/LesRisquesDeResidus_extrait3_En.pdf

reacciones de hipersensibilidad, el número de incidentes informados en países desarrollados es bajo⁹⁴.

El mismo autor afirma también:

Se considera sin embargo, que el consumo de leche contaminada con penicilina es solamente un riesgo para aquellos individuos más intensamente sensibilizados. Cabe destacar que esta consideración se basa en el nivel de contaminación que puede observarse en suministro a granel y no se aplicará necesariamente al consumo de leche altamente contaminada procedente de una o pocas vacas tratadas que sea destinada al consumo familiar. El segundo riesgo potencial para la salud humana es a través de la aparición de resistencia bacteriana a los antimicrobianos. El antimicrobiano en la leche puede eliminar bacterias sensibles y permite la sobrevida de las resistentes; además, la resistencia bacteriana es transferible entre bacterias que habitan en el tracto digestivo⁹⁵.

- **Alteración de la flora intestinal.** Magariños⁹⁶, afirma que además de las reacciones de alérgicas los antibióticos presentes en la leche pueden provocar la alteración de la flora intestinal, ya que la flora sensible benéfica para el organismo se ve afectada por los antibióticos mientras que la flora patógena resistente sobrevive.

4.5 MÉTODOS DE DETECCIÓN DE RESIDUOS ANTIBIÓTICOS

4.5.1 Generalidades. Teniendo en cuenta el artículo de Parra T. se puede decir de los métodos de detección de los residuos antibióticos que:

Existen varios métodos cuantitativos y cualitativos para detectar residuos de antibióticos en leche. Entre las pruebas de rutina están: técnicas bacteriológicas, inmunológicas y de radio inmunoensayo (RIA). Las pruebas bacteriológicas están basadas en la inhibición del crecimiento de algunos de estos organismos: *Bacillus stearothermophilus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bacillus subtilis* y *Micrococcus luteus* (*Sarcina lutea*). Las pruebas inmunológicas utilizan anticuerpos

⁹⁴ CALVINHO, Luís F. ¿Cómo producir leche sana?. 2003. [en línea]. Pagina web versión Html. [fecha de consulta: septiembre 14 2007]. Disponible en Internet: http://www.cuencarural.com/lecheria/como_producir_leche_sana/

⁹⁵ Ibid. p 1.

⁹⁶ MAGARIÑOS H. Op., cit. p. 66.

monoclonales, para ligar los antibióticos. La prueba de ELISA también se usa en este tipo de pruebas, con componente enzimático. Existen otros métodos como las de cromatografía líquida y de gases, que son pruebas más sofisticadas; sin embargo, la literatura científica sugiere la propuesta de un procedimiento válido, que mantenga la especificidad y la sensibilidad o un valor predictivo alto.⁹⁷

4.5.2 Clasificación.

- **Tests microbiológicos.** De acuerdo con la clasificación realizada por Fabre J.⁹⁸, este es uno de los métodos de detección de antibióticos, además afirma también que consisten en detectar a un antibiótico con una cepa bacteriana, la cual es inhibida o no por la presencia del antibiótico. Para simplificar dichos tests detectan numerosos antibióticos en umbrales muy cercanos al MRL (límite máximo residual). Estos son tests cualitativos, pero con un umbral conocido. Estas pruebas como algunos test rápidos pueden ser realizados por no profesionales, mientras que los otros tests solo pueden ser realizados en laboratorios adaptados con técnicos especializados. Los tests microbiológicos cuestan unos cuantos euros mientras que las otras pruebas pueden costar alrededor de 100 euros por molécula buscada. A la fecha, los principales tests utilizados en el mundo y los más antiguos de este tipo son Delvotest® y BrTest®. Cabe anotar que la mayoría de estas pruebas utilizan a la misma bacteria: *Bacillus stearothermophilus*. Como un ejemplo se estima que en Francia 5.000.000 de pruebas microbiológicas de Delvotest® se realizan por productores de leche en el año. Es importante mencionar que la existencia de inhibidores naturales en leche anormal pueden llegar a acusar falsos positivos. Esto es particularmente real en vacas que sufren de mastitis o para el calostro.

- **Difusión en gelosa.** El mismo autor, Fabre⁹⁹, nos da a conocer que: este fue el primer método utilizado y consiste en empapar un papel filtro con leche y colocarlo en una caja de Petri con una mezcla de un medio de cultivo y una bacteria hipersensible como *Bacillus stearothermophilus* variedad *calidolactis*. Con este método se tenía la posibilidad de determinar penicilina y

⁹⁷ PARRA T. Op., cit. p. 51-52.

⁹⁸ FABRE J.M. 4.1 Antibiotic detection methods in milk. 2006. p. 3. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: febrero 7 2007]. Disponible en Internet: http://www.dsm.com/le/static/delvotest/downloads/LesRisquesDeResidus_extrait4_En.pdf

⁹⁹ Ibid. p. 3.

otros β -lactámicos incubando por 2 horas y media a 55 grados centígrados el cultivo mencionado. Así se obtiene un halo de inhibición de 12 mm.

○ **Difusión en gelosa y acidificación.** Fabre¹⁰⁰, menciona también que, utilizando el mismo microorganismo mencionado en el método anterior y mediante sofisticados métodos de acidificación, se puede aumentar la sensibilidad de 5 a 10 veces con respecto al método simple de difusión en gelosa, para determinar cloranfenicol y neomicina sin embargo el método es poco práctico y caro, alternativamente se ha empleado el *Streptococcus thermophilus*, que resulta más sensible a éstos últimos fármacos, habiendo sido utilizado también para detectar penicilina a una concentración de .07 UI por ml según Dos Santos el empleo de otros Microorganismos: Para aumentar la sensibilidad lograda con los microorganismos ya mencionados, se recurrió a otros en particular siendo éstos: *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterius*, *Bacillus cereus* y *Micrococcus luteus*

• **Tests Rápidos.** Fabre¹⁰¹ también menciona que, estas pruebas se definen mas por sus funcionalidades que por las numerosas tecnologías que emplean. De hecho todas estas pruebas proveen un análisis cualitativo en pocos minutos, generalmente para una familia de antibióticos. Algunos de los más usados para la detección de Beta-lactámicos son: Penzym, Delvo-X-PressM BL, Betastar, Snap, Charm II.

• **Tests específicos.** El mismo autor, Fabre¹⁰², menciona que utilizando cromatografía líquida de alto desempeño, por ejemplo, se puede buscar una partícula y cuantificarla. Es posible buscar al mismo tiempo varias moléculas previamente definidas.

• **Tests de identificación y cuantificación.** Son por ejemplo los que se basan en el principio de la cromatografía líquida y espectrometría de masa. Se utilizan frecuentemente como pruebas de confirmación para pruebas rápidas.¹⁰³

¹⁰⁰ Ibid. p. 3.

¹⁰¹ Ibid. p. 2.

¹⁰² Ibid. p. 3.

¹⁰³ FABRE J.M. Risks related to the presence of antibiotic residues in food. Op., cit. p. 1

○ **Electroforesis.** De acuerdo a Ocampo:

Este método es especialmente útil para detectar residuos que no tienen actividad antimicrobiana natural. Este método se puso en práctica en 1979 por Tao y Billon, y presenta las siguientes ventajas:

1.) Eliminación de sustancias de actividad antimicrobiana como son los antibióticos naturales, incluyendo lacto-peroxidasa, aglutininas y lactotransferrinas del calostro.

2.) Mayor sensibilidad para la detección con respecto a los métodos de gelosa.

3.) Permite cierta clasificación de los principales grupos de antibióticos.

El método consiste en aplicar 0.1 ml de la leche problema en una capa de gelosa, haciendo pasar una corriente eléctrica de 150 a 160 voltios con un potencial diferencial a la gelosa de 100 voltios, aplicado por 4 horas a una intensidad de 40 mA. La gelosa debe tener un pH de 5.0 de 8.6. Así pues la fracción que migró del antibiótico, se determina con relación a un estándar. La presencia del antibiótico se revela con algún microorganismo de los antes citados en un medio de cultivo similar. De ésta manera la penicilina migra a el ánodo y la neomicina migra a los dos polos, el resto de los antibióticos migran al cátodo¹⁰⁴.

○ **Espectrofotometría con luz ultravioleta.** El mismo autor menciona que:

Este método consiste en colocar la sustancia problema, que pueda ser gas, líquido o sólido en el espectrofotómetro, y el vapor que de ellas emane se introduce a una cámara marcadora a una presión que va de 1 a 150° micrones. Después el vapor se filtra lentamente para llegar al compartimiento del analizador, el cual se bombea posteriormente afuera del sistema. Para mantener una presión constante, la muestra se filtra de manera continua hacia la cámara marcadora, durante el periodo en el cual se corre el espectro con una lámpara de gas. La prueba es capaz de detectar hasta menos de 1 miligramo de acetona¹⁰⁵.

¹⁰⁴ OCAMPO C., Luís. Residuos de fármacos en productos de origen animal. p. 7. . [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: febrero 7 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.fmvz.unam.mx/bovinotecnia/BtRgClig011.pdf>

¹⁰⁵ Ibid. p. 8.

- **Cromatografía.** Ocampo menciona también, sobre este método que:

Todos los tipos de cromatografía se pueden definir como un proceso de migración diferencial cuando los componentes de la muestra problema son retenidos selectivamente por una fase estacionaria. La fase estacionaria debe ser un sólido en movimiento o un líquido inmóvil. Las técnicas de cromatografía son esencialmente procesos de separación. A pesar de esto, algunas de éstas técnicas pueden ser cuantitativas. Dentro de las cromatografías existe la realizada en papel, que es un método ya abandonado.

La cromatografía en placa fina en (sílica gel y en celulosa) han dado los resultados siguientes: después de la extracción y separación de los antibióticos presentes en la leche se ha detectado en la medición de la fluorescencia en la placa bajo luz ultravioleta un nivel de 0.05 ppm de tetraciclina y sulfonamidas a razón de 0.1 ppm en tejidos.

La cromatografía líquida consiste en colocar por participación entre el líquido móvil y el líquido estacionario a la muestra problema. El líquido móvil no debe ser un solvente con respecto al líquido estacionario. Un subgrupo de éste tipo de cromatografía es la que se realiza en papel que como ya se mencionó es obsoleta. Dentro de las posibilidades utilizadas en la cromatografía líquida está la detección de antibióticos como el cloranfenicol a razón de 2 ppm en la leche [...] así mismo se usó para determinar la presencia de Ivermectina en la leche y en el plasma encontrando 2 nanogramos por mililitro según Toutain (11). (66), oxitetraciclina en concentración de 0.05 a 5 ppm en tejidos [...]¹⁰⁶.

4.5.3 Delvotest. De este producto se afirma en página de Internet de Dsm¹⁰⁷, que es una prueba microbiológica la cual puede detectar la presencia de un amplio rango de antibióticos, principalmente Beta-Lactámicos, esto gracias al cultivo bacteriano de *Bacillus staerothermophilus*. Además que cuando se emplea para probar leche, el crecimiento de este cultivo es inhibido si los antibióticos se encuentran presentes.

¹⁰⁶ Ibid. p. 8.

¹⁰⁷ DSM. Delvotest – Used everywhere. . [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 15 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.dsm.com/le/en_US/delvotest/html/delvotest_1.htm

Según Popelka, Nagy, Popelka, Marcincak, Rozanka y Sokol¹⁰⁸, en un experimento que apuntó a la evaluación del grado de sensibilidad para la detectar los límites de antibióticos β -Lactámicos que incluía a la penicilina G, ampicilina, oxzacilina y cloxacilina, con cuatro sistemas de ensayo: ensayo de difusión en disco con *Bacillus stearotemiphilus var. calidolactis*, Delvotest SP, Charm II test, Cromatografía líquida de alto desempeño. Obteniendo como resultado que se logró una sensibilidad elevada y una buena correlación de los resultados, aplicando test rápidos como Delvotest SP en comparación con un método menos sensible como el del ensayo de difusión en disco.

Citando de nuevo a Popelka, Nagy, Popelka, Marcincak, Rozanka y Sokol¹⁰⁹, en un estudio diferente en donde se compararon varios sistemas para examinar 108 muestras de leche de vacas que estaban recibiendo un tratamiento antibiótico en una infusión intramamaria, además de in tratamiento parenteral con β -Lactámicos. Se encontró que Delvotest presentó un resultado comparable con la prueba de cromatografía líquida. En donde ambos, Delvotest como el método de cromatografía líquida dieron como positivos en donde las otras pruebas dieron negativos.

Hablando de la sensibilidad del test, Rushing¹¹⁰, afirma que el Kit Delvotest detecta los siguientes antibióticos y respectivos niveles: Penicilina G (3 ppb), Ampicilina (10 ppb), Amoxicilina (8 ppb), Cefapirina (8 ppb), Ceftiofur (50 ppb).

¹⁰⁸ POPELKA, Peter, NAGY, Jozef, POPELKA, Pavel, MARCINCAK, Slavomir, ROZANKA, Hanna, SOKOL, Jozef. Comparison of sensitivity of various screening assays and liquid chromatography technique for penicillin residue detection in milk. 2004. p. 1. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: mayo 2 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.piwet.pulawy.pl/doc/biuletyn_48-3/18_popelka.pdf

¹⁰⁹ POPELKA, Peter, NAGY, Jozef, POPELKA, Pavel, MARCINCAK, Slavomir, ROZANKA, Hanna, SOKOL, Jozef. Comparison of various methods for penicillin residue detection in cow milk after intramammary and parenteral treatment. 2002. p. 1. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: mayo 2 de 2007]. Disponible en Internet: http://esterka.piwet.pulawy.pl/doc/biuletyn_47-1/26-357_Popelka.pdf

¹¹⁰ RUSHING J.E., WESEN D.P. Preventing antibiotic residues in milk. Departments of Food Science and Animal Science, North Carolina State University. [en línea]. Pagina web versión HTML. [fecha de consulta: febrero 7 de 2007]. Disponible en Internet: http://www2.ncsu.edu/ncsu/cals/food_science/faculty/rushing/jrushing.html

DISEÑO METODOLÓGICO

5.1. LOCALIZACIÓN

Según Fajardo, R. y Cifuentes, J. la capital del Departamento de Nariño, esta localizada a 1° 13' de latitud norte, 77° 17' de longitud oeste de Greenwich. La altura sobre el nivel del mar es de 2527 m, con una temperatura media de 14° C y precipitación media anual de 841 mm. Distante entre 795 kilómetros al sur de la capital de la república y a 85 kilómetros por la vía panamericana de la frontera ecuatoriana¹¹¹.

5.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

La población de muestreo en el presente trabajo fue la leche pasteurizada y comercializada en bolsa, en la ciudad de San Juan de Pasto, correspondiente a tres marcas comerciales que allí se distribuyen.

El número de muestras total fue distribuido de manera equitativa entre las tres marcas ya que no se obtuvieron los datos necesarios para la realización de una correspondencia estadística que tenga en cuenta el porcentaje de producción cada empresa o el consumo de cada marca comercial en la ciudad. Debido a que las plantas productoras afirman que estos datos son de uso privado y no pueden ser otorgados al público; en cuanto a los organismos veedores (Secretaría municipal de salud, Secretaría de Agricultura, Cadena Láctea), afirmaron desconocer estos datos ya que las plantas tampoco se los suministran a estos estamentos.

5.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para calcular el tamaño de la muestra se aplicó la siguiente fórmula:

$$n_0 = \frac{z^2 \times p \times q}{d^2}$$

Donde:

Z = valor asociado al valor de confianza establecida.

p = prevalencia estimada del 50%.

¹¹¹ FAJARDO, Rosita y CIFUENTES, Jorge. Diccionario Geográfico de Colombia. Santa Fe de Bogotá D.C.: Instituto geográfico "Agustín Codazzi". P. 350.

$q = 1-p$.

d = error máximo admitido para estimar la tasa de prevalencia = al 10%.

Teniendo en cuenta lo anterior y con un nivel de confianza del 95% el tamaño de muestra de la investigación será:

$$n_0 = (1.96)^2 \times 0.5 \times 0.5 / 0.01$$

$$n_0 = 3.84 \times 0.5 \times 0.5 / 0.01$$

$$n_0 = 96 \text{ numero de muestras}$$

Nota: Al no encontrarse datos de prevalencia de estudios similares, se tomaron como base el 50% partiendo de la hipótesis que la muestra tiene la misma probabilidad de ser positiva o negativa.

5.4 FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS

$H_0: p = 0,50$ (La presencia, en proporción de residuos de antibióticos β -lactámicos, en leche pasteurizada correspondiente a tres marcas diferentes y comercializada en bolsa, de origen bovino mediante la prueba Delvotest® en la ciudad de Pasto es igual a 50%).

$H_1: p \neq 0,50$ (La presencia, en proporción de residuos de antibióticos β -lactámicos, en leche pasteurizada correspondiente a tres marcas diferentes y comercializada en bolsa, de origen bovino mediante la prueba Delvotest® en la ciudad de Pasto es diferente a 50%).

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$ (El promedio de las características físico químicas: grasa, sólidos no grasos, densidad de la leche, proteínas y agua agregada a la leche; de las tres marcas de leche pasteurizada y comercializada en bolsa, de origen bovino mediante Ekomilk® en la ciudad de Pasto es igual para las marcas A, B, y C).

$H_1: \text{al menos } \mu_i \neq \mu_j$, donde i, j son 1, 2, 3 (El promedio de las características físico químicas: grasa, sólidos no grasos, densidad de la leche, proteínas y agua agregada a la leche; de las tres marcas de leche pasteurizada y comercializada en bolsa, de origen bovino mediante Ekomilk® en la ciudad de Pasto es diferente para las marcas A, B, y C)

5.5 TÉCNICAS PARA LA RECOLECCIÓN Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

Se adquirieron diariamente treinta (30) bolsas de leche higienizada, durante tres (3) días consecutivos y seis (6) bolsas el cuarto día, en las siguientes fechas: 15, 16, 17 y 18 de agosto del 2007; repartiendo equitativamente las bolsas correspondientes a las muestras entre tres marcas comerciales diferentes, esto en diferentes establecimientos donde eran comercializadas. Las bolsas fueron transportadas en una caja de icopor para transporte

refrigerado y se llevaron al sitio acondicionado para llevar a cabo las pruebas, en este caso a las instalaciones del laboratorio de patología de la clínica veterinaria Carlos Martínez Hoyos de la Universidad de Nariño.

Se realizó un análisis estadístico, por medio del programa informático Statgraphics, por medio del cual se realizó una tabulación cruzada y un contraste de Chi cuadrado. También se realizaron las pruebas de ANOVA, en donde a los resultados estadísticos significativamente diferentes se les realizó un test de rangos múltiples. Se realizó un análisis de componentes principales por medio del método de multivariantes en donde también se aplicó la ponderación del componente teniendo en cuenta los parámetros de la estadística descriptiva e inferencial.

5.6 EQUIPOS Y UTENSILIOS

Blusas blancas.

Guantes de látex para la manipulación de las muestras y realización de las pruebas.

Caja de icopor para el transporte de las bolsas de leche.

Refrigerante para conservar las muestras en refrigeración.

Marcador indeleble

Vasos desechables

Tijeras

Termómetro.

Cronómetro.

Agua destilada

Jeringas de 20 ml

Jeringas de 10 ml

Kit Delvotest SP – NT.®

Incubadora MIC - 12.

Recipiente plástico para procesamiento de la muestra para Ekomilk

Papel absorbente

Embolo plástico para la limpieza manual del Ekomilk

Detergente Ekoweek para limpieza ekomilk

Termo

Baño maría

Ekomilk M

Libreta

Bolígrafos

5.2.1 TÉCNICA DE LABORATORIO

5.7.3 Preparación de las muestras. Posteriormente a la adquisición y transporte de las muestras hasta las instalaciones designadas para llevar a cabo las pruebas del trabajo de instalación, se realizó el siguiente procedimiento: Se rotuló cada uno de los vasos desechables con una serie para identificar cada muestra utilizando el marcador indeleble; se recortó con una tijera la punta de cada bolsa que contenía la leche correspondiente a cada muestra y se depositó cada muestra en el respectivo vaso desechable, haciendo grupos de diez muestras para cada procedimiento.

5.7.2 Delvotest. Para la realización de la prueba con Delvotest, se realizó un precalentamiento automático de la incubadora MIC – 12, terminado el precalentamiento se procedió a homogeneizar cada una de las muestras con un agitador de cristal, después de homogeneizadas las muestras se procedió a recortar 10 ampolletas por separado que contenían el cultivo con el que se realiza la prueba para Delvotest, una vez recortada cada una de las ampolletas, se acopló la jeringa de succión con capacidad de 1 ml, proporcionada por el kit comercial de Delvotest a una pipeta plástica (una para cada muestra), también proporcionada con el kit comercial, después de realizado el acoplamiento se rompió la película protectora de la ampolleta con la punta de la pipeta plástica, después de lo cual se procedió a realizar la toma de la muestra de uno de los vasos desechables, realizando succión con la jeringa hasta completar 1ml de muestra; posterior a este procedimiento se liberó la muestra dentro de la ampolleta del cultivo, después se depositó la ampolleta preparada en uno de los agujeros destinados a ellas en la incubadora MIC – 12. Este procedimiento se repitió para cada una de las diez (10) muestras rotuladas al inicio del procedimiento. Posteriormente se inició una cuenta regresiva correspondiente a

180 minutos, con un cronómetro, ya que este era el tiempo indicado por el fabricante para la incubación del cultivo.

Después de terminados los 180 minutos correspondientes a la incubación se realizó la interpretación de los resultados, se tomó como positivo a antibióticos β -Lactámicos cuando el color del cultivo no cambió y permaneció púrpura o Negativa a antibióticos β -Lactámicos cuando el color del cultivo cambió de color a un tono amarillo o cercano al mismo. Finalmente se consignaron los resultados por escrito. Finalmente y posterior a la lectura se desecharon las ampollitas con la leche y el cultivo y se repitió el antes mencionado proceso para las siguientes diez (10) muestras.

5.7.3 Ekomilk. Para la evaluación de las muestras de leche en este equipo, se emplearon las muestras previamente rotuladas y utilizadas para las pruebas con Delvotest, con las cuales se realizó la evaluación de las propiedades físico químicas, mencionadas en el marco teórico*.

Para iniciar se realizó una purga del equipo con agua destilada, llenando el recipiente plástico especial para el Ekomilk, en la cantidad indicada por el fabricante (20 ml), esto se hizo con una jeringa desechable. Posterior al llenado del recipiente se procedió a realizar un ciclo automático de lavado del equipo, terminado el mismo se procedió a elevar la temperatura de las muestras a 15° C., mediante baño maría, controlando la temperatura mediante un termómetro, para que la temperatura no sobrepasara la temperatura requerida para las mediciones. Posterior al calentamiento de la muestra se llevó a cabo una homogeneización de la leche, tras la cual se hizo una primera medición para lo cual se tomaron 20 ml de leche con una jeringa desechable y se depositaron en el recipiente plástico especial para Ekomilk. Posterior a la lectura y rotulación de los resultados en una libreta, se hizo una segunda medición, para lo cual se descartaron los primeros 20 ml empleados en la primera medición, se lavó el recipiente plástico con agua destilada y se realizó un secado por agitación del ya mencionado recipiente, posterior a esto se tomaron nuevamente 20 ml de leche de la muestra a evaluar para ser depositados en seguida en el recipiente plástico, teniendo en cuenta que la temperatura fue medida para asegurar que se encontraba a 15 ° C., antes de realizar la medición respectiva. Finalizado el proceso de análisis de la muestra, se realizó la nueva lectura y rotulación de resultados. Al final de cada día del estudio se realizó el lavado del equipo con la solución detergente Ekoweek, agregando 1ml de la solución mencionada en 10 ml de agua destilada, esto durante un ciclo de lavado del Ekomilk, y adicional a esto un segundo y tercer lavado con agua destilada durante un ciclo cada uno. El procedimiento anteriormente descrito se repitió durante todo el estudio. Al final de la evaluación de la totalidad de las muestras se obtuvo el promedio de los resultados obtenidos para su posterior evaluación estadística.

* Ver numeral 4.2.2.

6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 DELVOTEST

En cuanto a la presencia, en proporción de residuos de antibióticos β -lactámicos, en leche pasteurizada correspondiente a tres marcas diferentes y comercializada en bolsa, de origen bovino mediante la prueba Delvotest®, en la ciudad de Pasto, los resultados obtenidos fueron:

Ya que en el presente estudio únicamente se encontró un 2.08% de resultados positivos a la prueba Delvotest para antibióticos β -lactámicos, entonces:

Se acepta la hipótesis alterna: $H_1: \pi \neq 0,50$ (La presencia, en proporción de residuos de antibióticos β -lactámicos, en leche pasteurizada correspondiente a tres marcas diferentes y comercializada en bolsa, de origen bovino mediante la prueba Delvotest® en la ciudad de Pasto es diferente a 50%).

6.1.1 Tabulación cruzada y prueba Chi cuadrado. En este procedimiento se observa una tabla bidimensional que muestra la frecuencia de ocurrencia de pares de valores únicos, en este caso para las variables marca y Delvotest (en donde el número 0 corresponde a los resultados negativos a la presencia de residuos β -lactámicos y 1 corresponde a los resultados positivos a la presencia de residuos β -lactámicos). En la tabla 2, se puede observar en las celdas correspondientes a los resultados para Delvotest en cada marca los valores para la frecuencia observada, el porcentaje de tabla, es decir el porcentaje que representa la marca dentro de la totalidad del muestreo y el porcentaje de fila, que representa el porcentaje para el número de muestras de la marca específica.

El las figuras 1 y 2 podemos detallar la proporción de los resultados positivos y negativos para la prueba Delvotest, por marca (Figura 1), además se puede observar también la frecuencia por marca para los resultados tanto positivos como negativos por marca (Figura 2).

El test Chi cuadrado realiza un contraste de hipótesis para determinar si se rechaza o no la idea de que la fila y la columna seleccionadas son independientes. Dado que el p-valor es superior o igual a 0.10, como se observa en la tabla 3, no podemos rechazar la hipótesis de que las filas y columnas son independientes. En consecuencia, el valor observado de marca para un caso particular puede no tener relación con su valor en delvotest.

De la tabla de frecuencias para marca según Delvotest (Tabla 2), se puede afirmar que la presencia en proporción para resultados negativos a antibióticos β -lactámicos en las marcas A y B representaron a un 33.33 % de la totalidad

de las muestras (n=96), respectivamente, ya que 32 de las 32 muestras analizadas por marca resultaron negativas en la prueba Delvotest, Mientras que para la marca C representó un 31.25 % ya que 30 de las 32 muestras analizadas para la marca C resultaron negativas a la prueba Delvotest, mientras que un 2.08 % de los resultados fueron positivos, ya que 2 de las 32 muestras analizadas en la marca C resultaron positivas a la prueba Delvotest.

Tabla 2. Frecuencias para marca según delvotest

Marca	Delvotest		Total fila
	0	1	
A	32	0	32
	33.33%	0.00 %	33.33 %
	100.00%	0.00 %	
B	32	0	32
	33.33%	0.00 %	33.33 %
	100.00%	0.00 %	
C	30	2	32
	31.25 %	2.08 %	33.33 %
	93.75 %	6.25 %	
Columna	94	2	96
Total	97.92 %	2.08 %	100.00 %

Variable Fila: marca; Variable Columna: Delvotest; Número de observaciones: 96; Número de filas: 3; Número de columnas: 2.

Figura 1. Gráfico de Mosaico para marca según delvotest

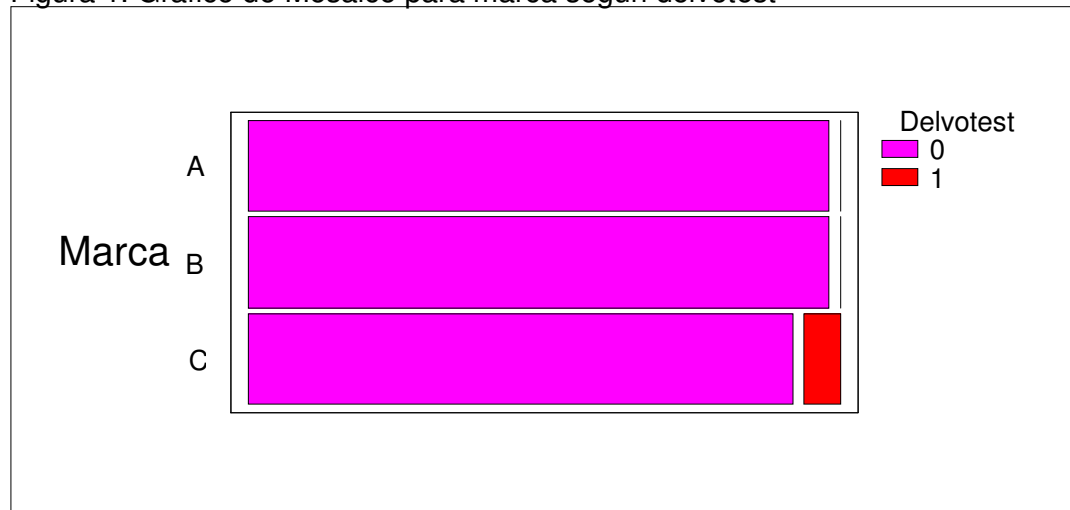


Figura 2. Diagrama de Barras para marca según delvotest.

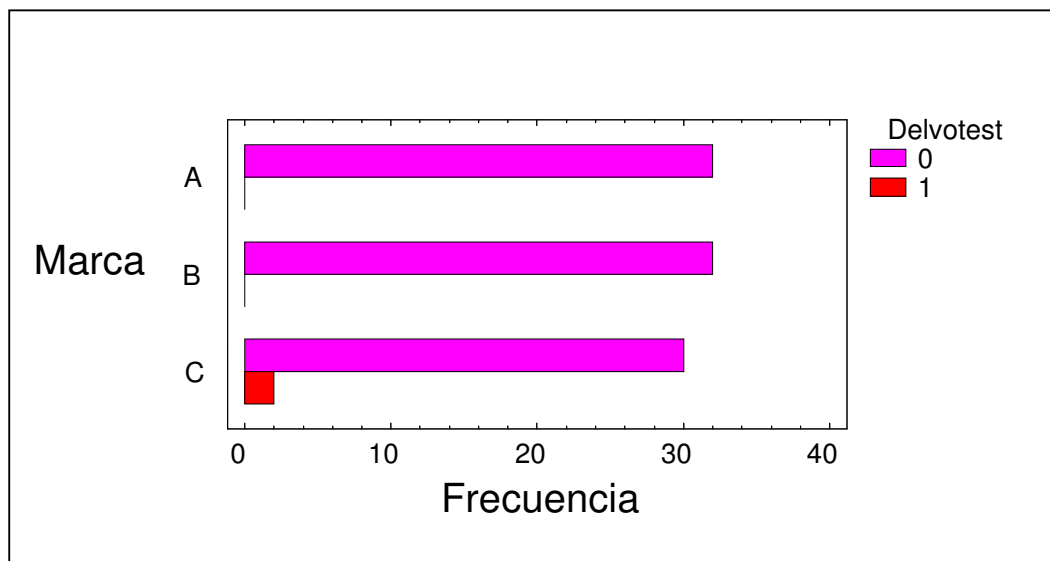


Tabla 3. Contraste de Chi-cuadrado.

Chi cuadrado	GL	P-Valor
4.09	2	0.1297

Mientras que la proporción para los resultados negativos a antibióticos β -lactámicos por marca individual fue de un 100.00 % para las marcas A y B respectivamente, mientras que para marca C la proporción para los resultados negativos a antibióticos β -lactámicos por marca individual fue de 93.75 % y un 6.25 % de los resultados para la proporción correspondió a resultados positivos.

De la prueba de Chi cuadrado podemos afirmar que el resultado para Delvotest no está estadísticamente relacionada con la variable marca. Esto ya que cada planta procesadora debe realizar la evaluación de la leche cruda al momento de la recepción de la leche de lo que se deduce que cada planta puede tener métodos diferentes para la evaluación y por ende resultados diferentes.

De lo anterior podemos decir que las marcas A y B se encuentran dentro de lo aceptado por el decreto 616 del 2007¹¹³, ya que para el caso de antibióticos β -lactámicos y durante el periodo de estudio estas dos marcas se encontraron libres de residuos como se puede observar en los resultados, por lo que cumplen con el artículo 17 del capítulo V, ya que las muestras no presentaron

¹¹³ COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Op., cit. p 13.

residuos detectables mediante la prueba Delvotest, aún cuando esta detecta niveles por debajo de lo estipulado por los organismos de control mundiales, como afirman Rushing y Wesen¹¹⁴.

En cuanto a la marca C podemos afirmar que los resultados obtenidos reflejan posibles fallas en la detección de antibióticos, que incumplen con el artículo 11 del capítulo III, del decreto 616 del 2007¹¹⁵, en donde se habla del control en las plantas de enfriamiento para la leche cruda. A pesar de esto cabe la posibilidad que el control se este realizando con una prueba diferente a Delvotest. Pero dado que Delvotest tiene una alta sensibilidad, puede detectar valores que están incluso por debajo de los valores permitidos por la FDA (Food and drug administration), y por los límites máximos residuales para la Unión Europea como se observa en el artículo de Althaus, Torres, Montero, Balasch, y Molina¹¹⁶, y es muy probable que por esta razón esta leche salió al mercado como apta para consumo, a pesar de tener residuos de antibióticos.

6.2 EKOMILK

6.2.1 Análisis de varianza para las propiedades físico químicas.

Teniendo en cuenta las medias analizadas en los análisis de varianza para las propiedades físico químicas (grasa, sólidos no grasos, densidad, proteínas y agua agregada):

Se acepta la hipótesis alterna: H_1 : al menos $\mu_i \neq \mu_j$, donde i, j son A, B, C (El promedio de las características físico químicas: grasa, sólidos no grasos, densidad de la leche, proteínas y agua agregada a la leche; de las tres marcas de leche pasteurizada y comercializada en bolsa, de origen bovino mediante Ekomilk® en la ciudad de pasto es diferente para las marcas A, B, y C).

- **Anova para densidad.** Empleando los resultados obtenidos de las marcas A, B y C para la densidad, de la tabla ANOVA se puede afirmar que puesto que el p-valor del test F es inferior a 0,05, hay diferencia estadísticamente significativa entre las densidades medias de un nivel de marca a otro, con un nivel de confianza del 95,0%.

¹¹⁴ RUSHING J.E., WESEN D.P. Op., cit. p 1.

¹¹⁵ COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Op., cit. p 11.

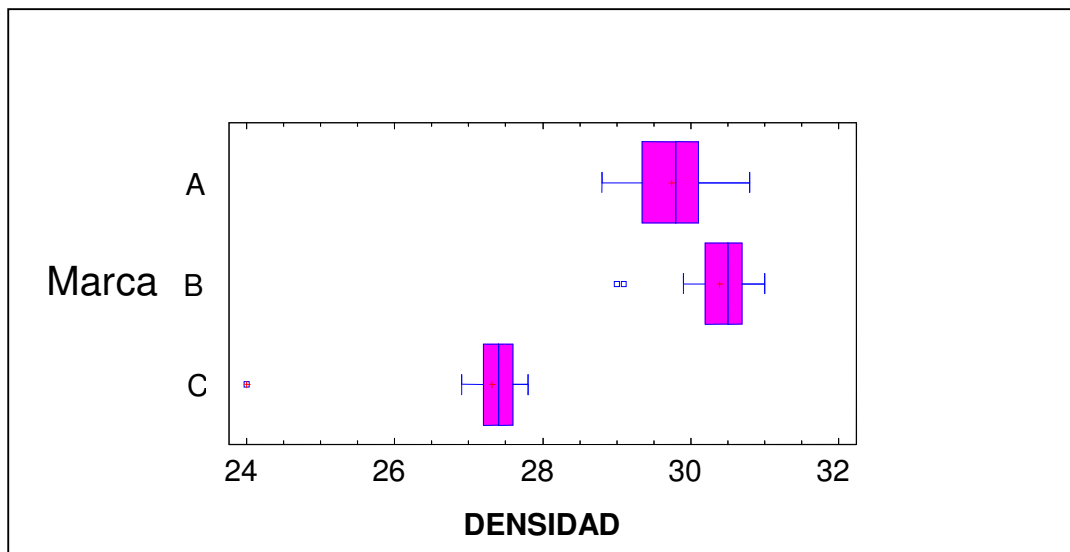
¹¹⁶ ALTHAUS, R. L. TORRES, A. MONTERO, A. BALASCH, S. MOLINA, M. P. Detection limits of antimicrobials in ewe milk by Delvotest photometric measurements. p. 3. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: febrero 19 de 2007]. Disponible en Internet: <http://jds.fass.org/cgi/content/abstract/86/2/457>

Tabla 4. ANOVA para densidad según marca

Fuente	Sumas de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Cociente - F	P-Valor
Entre grupos	168,698	2	84,3491	283,39	0,0000
Intra grupos	27,6809	93	0,297644		
Total (Corr.)	196,379	95			

En la figura 3 se puede observar la distribución de los resultados para las marcas A, B y C dentro de los valores obtenidos para la variable densidad.

Figura 3. Gráfico de cajas y bigotes para densidad según marca.



Al determinar el contraste múltiple de rango para la variable densidad según la marca se confirma que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las marcas A, B, y C, para la variable en cuestión. Como se puede observar también en el cuadro 4.

Para el cuadro 4 se aplicó un procedimiento de comparación múltiple para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras. La mitad inferior del cuadro muestra la diferencia estimada entre cada marca para las medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares, indica que

éstos muestran diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza 95,0%. En la parte superior del cuadro, se identifican 3 grupos homogéneos según la alineación del signo X en la columna. Dentro de cada columna, los niveles que tienen signo X forman un grupo de medias entre las cuales no hay diferencias estadísticamente significativas. El método que se empleó para discernir entre las medias es el procedimiento de la diferencia más francamente significativa de Tukey (HSD). Con este método, hay un 5,0% de riesgo de considerar uno o más pares como significativamente diferentes cuando su diferencia real es igual a 0.

Cuadro 4. Contraste Múltiple de Rango para densidad según marca

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
Marca	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
C	32	27,3094	X
A	32	29,7437	X
B	32	30,3875	X
Contraste		Diferencias	+/- Límites
A-B		-0,64375*	0,324868
A-C		2,43437*	0,324868
B-C		3,07813*	0,324868

*Indica una diferencia significativa

Para esta propiedad física tenemos que la media para marca C fue la única que se encontró dentro del rango estipulado por el Decreto 616. Mientras que las medias de las otras dos marcas se encontraron por debajo del rango, esto se puede relacionar con niveles de agua agregada mayores que producen en consecuencia la variación del contenido de grasa y proteína por dilución, como se menciona en el artículo de la dirección general de promoción agraria¹¹⁷.

- **Anova para grasa.** Empleando los resultados obtenidos de las marcas A, B y C para la grasa, de la tabla ANOVA se puede afirmar que puesto que el p-valor del test F es superior o igual a 0,05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de grasa de un nivel de marca a otro, con un nivel de confianza del 95,0%, como se puede observar en la tabla 5.

En la figura 4 se puede observar la distribución de los resultados para las marcas A, B y C dentro de los valores obtenidos para la variable densidad.

¹¹⁷ ING. MAST. CIENCE ZAVALA POPE. Op.,cit. p. 29.

Para esta característica química las medias de las tres marcas se encontraron dentro de los rangos estipulados por la norma ya anteriormente mencionada (Decreto 616 del 2007). Como se puede observar en la tabla 6.

Tabla 5. ANOVA para grasa según marca

Fuente	Sumas de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Cociente - F	P-Valor
Entre grupos	0,0293687	2	0,0146844	0,80	0,4536
Intra grupos	1,71289	93	0,0184182		
Total (Corr.)	1,74226	95			

Figura 4. Gráfico de cajas y bigotes para grasa según marca.

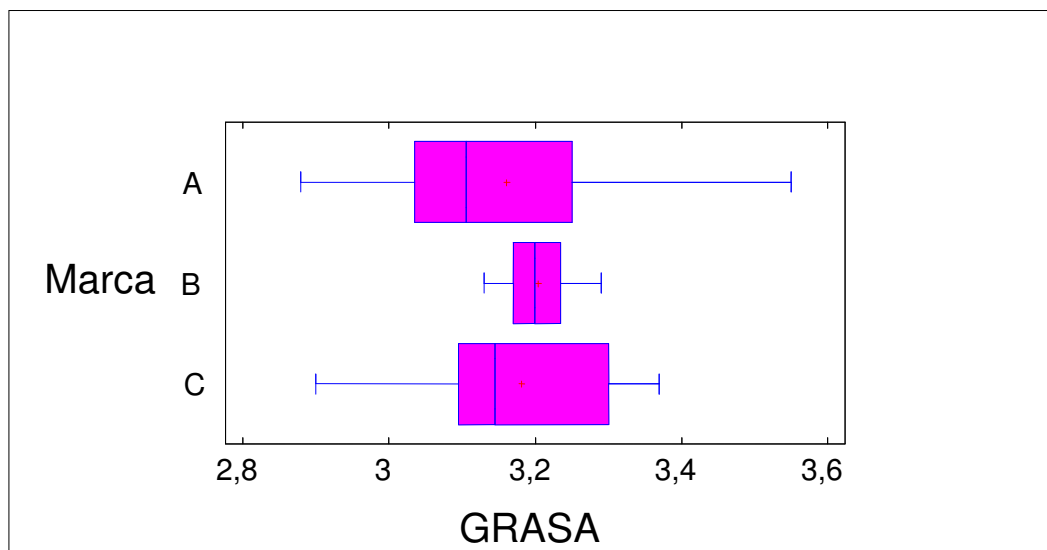


Tabla 6. Resumen estadístico para grasa.

Marca	FRECUENCIA	MEDIA
A	32	3.16094
B	32	3.20375
C	32	3.18094

- **Anova para agua agregada.** Empleando los resultados obtenidos de las marcas A, B y C para agua agregada, de la tabla ANOVA se puede afirmar que puesto que el p-valor del test F es inferior a 0,05, hay diferencia

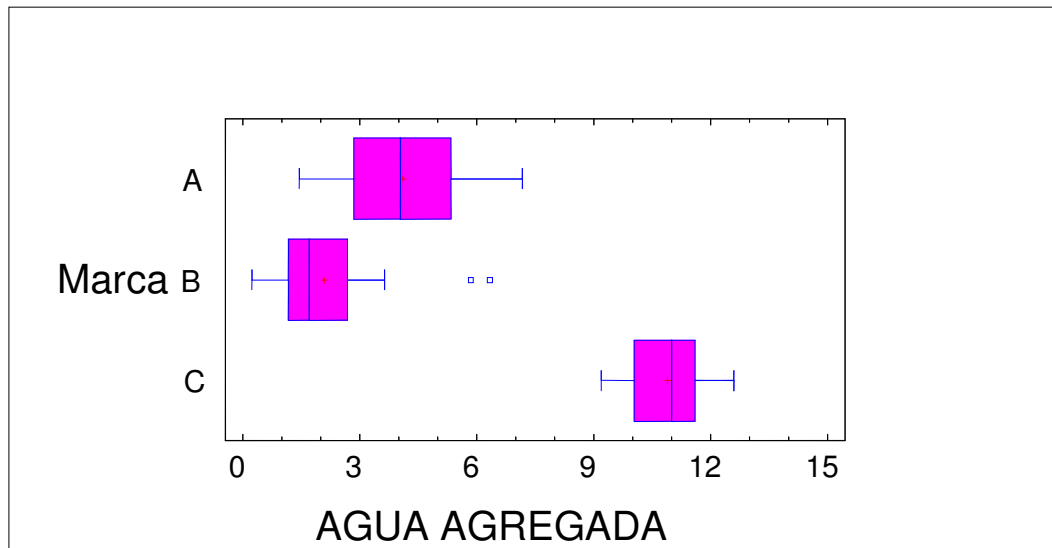
estadísticamente significativa entre las medias de agua agregada de un nivel de marca a otro, con un nivel de confianza del 95,0%.

En la figura 5 se puede observar la distribución de los resultados para las marcas A, B y C dentro de los valores obtenidos para la variable agua agregada.

Tabla 7. ANOVA para agua agregada según marca

Fuente	Sumas de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Cociente - F	P-Valor
Entre grupos	1362,04	2	681,021	386,28	0,0000
Intra grupos	163,963	93	1,76304		
Total (Corr.)	1526,01	95			

Figura 5. Gráfico de cajas y bigotes para agua agregada según marca.



Al determinar el contraste múltiple de rango para la variable agua agregada según la marca se confirma que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las marcas A, B, y C, para la variable en cuestión. Como se puede observar también en el cuadro 5.

Para este cuadro se aplicó un procedimiento de comparación múltiple para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras. La mitad inferior del cuadro muestra la diferencia estimada entre cada marca para

las medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares, indica que éstos muestran diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza 95,0%. En la parte superior del cuadro, se identifican 3 grupos homogéneos según la alineación del signo X en la columna. Dentro de cada columna, los niveles que tienen signo X forman un grupo de medias entre las cuales no hay diferencias estadísticamente significativas. El método que se empleó para discernir entre las medias es el procedimiento de la diferencia más francamente significativa de Tukey (HSD). Con este método, hay un 5,0% de riesgo de considerar uno o más pares como significativamente diferentes cuando su diferencia real es igual a 0.

Cuadro 5. Contraste Múltiple de Rango para agua agregada según marca

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
Marca	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
B	32	2,08156	X
A	32	4,10687	X
C	32	10,8897	X
Contraste		Diferencias	+/- Límites
A-B		2,02531*	0,790658
A-C		-6,78281*	0,790658
B-C		-8,80813*	0,790658

*Indica una diferencia significativa

Para esta característica, tenemos que existe una diferencia significativa para las tres marcas evaluadas, esta diferencia se puede explicar por los diferentes factores que intervienen en el grado de presencia o ausencia de agua agregada en la leche, como se menciona en el artículo: “Added water: the hidden costs” del British columbia ministry of agriculture, fisheries and food dairy talk¹¹⁸, dentro de los que podemos mencionar están los factores que afectan directamente al animal como la temperatura del año, el tipo de alimentación, raciones desbalanceadas, abastecimiento inadecuado de agua para bebida en cuanto a calidad y disponibilidad. Es importante resaltar que existen otros factores importantes que también se mencionan en el mismo artículo como lo son los accidentes, prácticas erróneas y/o equipos defectuosos, tanto en la producción primaria como en las producciones a nivel industrial como lo son las plantas procesadoras de leche.

- **Anova para proteína.** Empleando los resultados obtenidos de las marcas A, B y C para proteína, de la tabla ANOVA se puede afirmar que

¹¹⁸ BRITISH COLUMBIA MINISTRY OF AGRICULTURE, FISHERIES AND FOOD DAIRY TALK. Op.,cit. p. 2.

puesto que el p-valor del test F es inferior a 0,05, hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de proteína de un nivel de marca a otro, con un nivel de confianza del 95,0%.

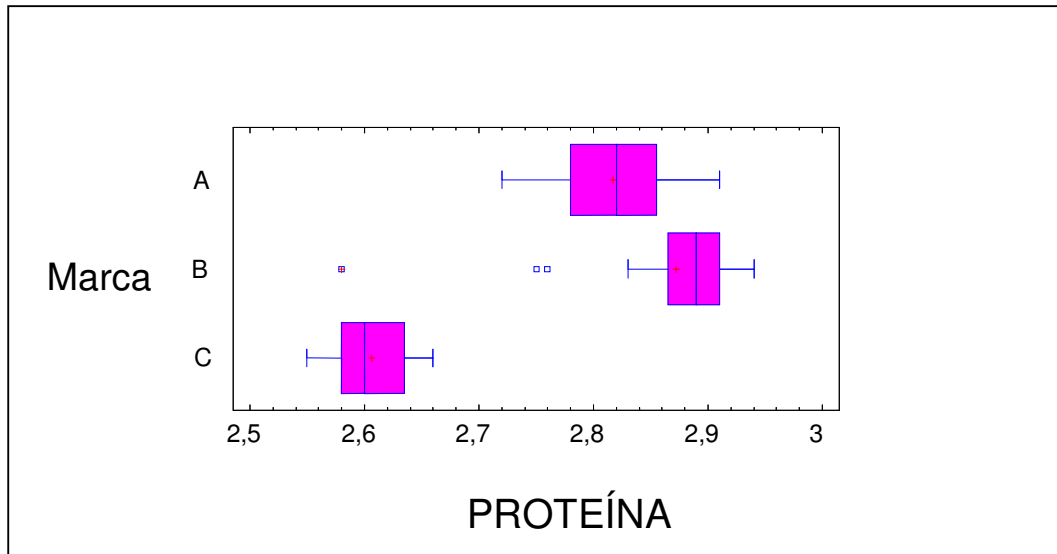
En la figura 6 se puede observar la distribución de los resultados para las marcas A, B y C dentro de los valores obtenidos para la variable proteína.

Al determinar el contraste múltiple de rango para la variable proteína según la marca se confirma que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las marcas A, B, y C, para la variable en cuestión. Como se puede observar también en el cuadro 6.

Tabla 8. ANOVA para proteína según marca

Fuente	Sumas de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Cociente - F	P-Valor
Entre grupos	1,25808	2	0,629038	229,13	0,0000
Intra grupos	0,255316	93	0,00274533		
Total (Corr.)	1,51339	95			

Figura 6. Gráfico de cajas y bigotes para proteína según marca.



Para el siguiente cuadro se aplicó un procedimiento de comparación múltiple para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de

otras. La mitad inferior del cuadro muestra la diferencia estimada entre cada marca para las medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares, indica que éstos muestran diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza 95,0%. En la parte superior del cuadro, se identifican 3 grupos homogéneos según la alineación del signo X en la columna. Dentro de cada columna, los niveles que tienen signo X forman un grupo de medias entre las cuales no hay diferencias estadísticamente significativas. El método que se empleó para discernir entre las medias es el procedimiento de la diferencia más francamente significativa de Tukey (HSD). Con este método, hay un 5,0% de riesgo de considerar uno o más pares como significativamente diferentes cuando su diferencia real es igual a 0.

Cuadro 6. Contraste Múltiple de Rango para proteína según marca

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
Marca	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
C	32	2,60656	X
A	32	2,81719	X
B	32	2,87219	X
Contraste		Diferencias	+/- Límites
A-B		-0,055*	0,0312
A-C		0,210625*	0,0312
B-C		0,265625*	0,0312

*Indica una diferencia significativa

A pesar que existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias para proteína para las tres marcas se pueden clasificar los resultados para las marcas A y B como buenas y regular, para la marca C esta clasificación de acuerdo con lo afirmado a Parra T.¹¹⁹.

- **Anova para SNF.** Empleando los resultados obtenidos de las marcas A, B y C para SNF, de la tabla ANOVA se puede afirmar que puesto que el p-valor del test F es inferior a 0,05, hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de SNF de un nivel de marca a otro, con un nivel de confianza del 95,0%.

En la figura 7 se puede observar la distribución de los resultados para las marcas A, B y C dentro de los valores obtenidos para la variable SNF.

Al determinar el contraste múltiple de rango para la variable SNF según la marca se confirma que existe una diferencia estadísticamente significativa

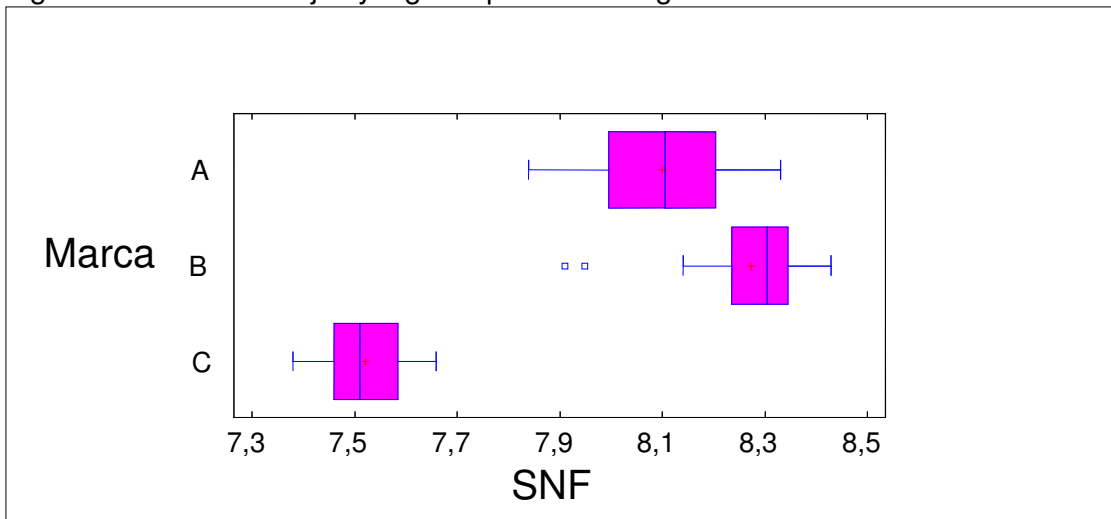
¹¹⁹ PARRA T. Op, cit. p. 11.

entre las marcas A, B, y C, para la variable en cuestión. Como se puede observar también en el cuadro 7.

Tabla 9. ANOVA para SNF según marca

Fuente	Sumas de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Cociente - F	P-Valor
Entre grupos	9,94726	2	4,97363	398,02	0,0000
Intra grupos	1,16212	93	0,012496		
Total (Corr.)	11,1094	95			

Figura 7. Gráfico de cajas y bigotes para SNF según marca.



Cuadro 7. Contraste Múltiple de Rango para SNF según marca

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
Marca	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
C	32	7,52062	X
A	32	8,09938	X
B	32	8,27375	X
Contraste		Diferencias	+/- Límites
A-B		-0,174375*	0,0665645
A-C		0,57875*	0,0665645
B-C		0,753125*	0,0665645

*Indica una diferencia significativa

Para este cuadro se aplicó un procedimiento de comparación múltiple para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras. La mitad inferior del cuadro muestra la diferencia estimada entre cada marca para las medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares, indica que éstos muestran diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza 95,0%. En la parte superior del cuadro, se identifican 3 grupos homogéneos según la alineación del signo X en la columna. Dentro de cada columna, los niveles que tienen signo X forman un grupo de medias entre las cuales no hay diferencias estadísticamente significativas. El método que se empleó para discernir entre las medias es el procedimiento de la diferencia más francamente significativa de Tukey (HSD). Con este método, hay un 5,0% de riesgo de considerar uno o más pares como significativamente diferentes cuando su diferencia real es igual a 0.

En cuanto a esta característica química podemos afirmar que las tres marcas se encontraron por debajo de los valores estipulados en el decreto 616 del 2007, siendo la más cercana a los valores admitidos la marca C y la marca B. Haciendo uso de la clasificación de Alpina citado por Parra T¹²⁰, para la leche podemos clasificar a la marca A y B en SNF como regular y para la marca C se clasifica como mala.

6.2.2 Método de multivariables para determinar el componente principal.

Para realizar este procedimiento se tomaron en cuenta las cinco propiedades físico químicas analizadas mediante Ekomilk, siendo estas: densidad, grasa, agua agregada, proteína y SNF. Esto para obtener un pequeño número de combinaciones lineales de las 5 variables que explique la mayoría de la variabilidad en los datos. Para este análisis, se extrajo un componente único, ya que sólo este componente tenía un autovalor mayor o igual a 1,0. Esto explica el 78,7319% de la variabilidad en los datos originales. Los datos descritos se pueden observar en la tabla 10.

Tabla 10. Análisis de componentes principales.

Análisis de componentes principales			
Número de componentes	Autovalor	Porcentaje de varianza	Porcentaje acumulado
1	3,93659	78,732	78,732
2	0,982814	19,656	98,388
3	0,0529722	1,059	99,448
4	0,0272667	0,545	99,993
5	0,000353282	0,007	100,000

¹²⁰ Ibid. p. 11.

- **Ponderación del componente.** Al encontrar que existía un componente único que representaba la variabilidad de los demás en un 78,732%, se realizó una ponderación del componente, esto para determinar cuál de las cinco variables es la que afectaba más a las otras. De la siguiente tabla se logró deducir que el agua agregada es el componente que mas afectó a las otras propiedades, ya que interactuó inversamente proporcional a ellas, lo que concuerda con lo afirmado en los artículos del British columbia ministry of agriculture, fisheries and food¹²¹ y de Lactosan¹²².

Tabla 11. Pesos de las componentes.

	Componentes: 1
DENSIDAD	-0,493492
GRASA	-0,0872972
AGUA AGREGADA	0,502031
PROTEÍNA	-0,494759
SNF	-0,50202

Además se obtuvo una ecuación para la primera componente, lo que nos permitió calcular un índice físico químico, realizando los cálculos para cada marca con los respectivos valores obtenidos en los análisis de la leche.

Siendo la ecuación la siguiente:

$$X = -0,493492 * \text{DENSIDAD} - 0,0872972 * \text{GRASA} + 0,502031 * \text{AGUA AGREGADA} - 0,494759 * \text{PROTEÍNA} - 0,50202 * \text{SNF}$$

Donde los valores de las variables en la ecuación están estandarizados substrayendo sus medias y dividiéndolos por sus desviaciones típicas.

- **Índice físico químico.** al obtener el índice físico químico se logró unificar los valores de las cinco propiedades estudiadas en un solo valor. Con esto se realizó un nuevo análisis de varianza que permite determinar de una forma más sencilla si existe o no una diferencia significativa entre las tres marcas de leche, como se puede observar en la tabla 12.

¹²¹ CANADA. BRITISH COLUMBIA MINISTRY OF AGRICULTURE, FISHERIES AND FOOD DAIRY TALK. Op.,cit. p. 1.

¹²² LACTOSAN. Op., cit. p. 1.

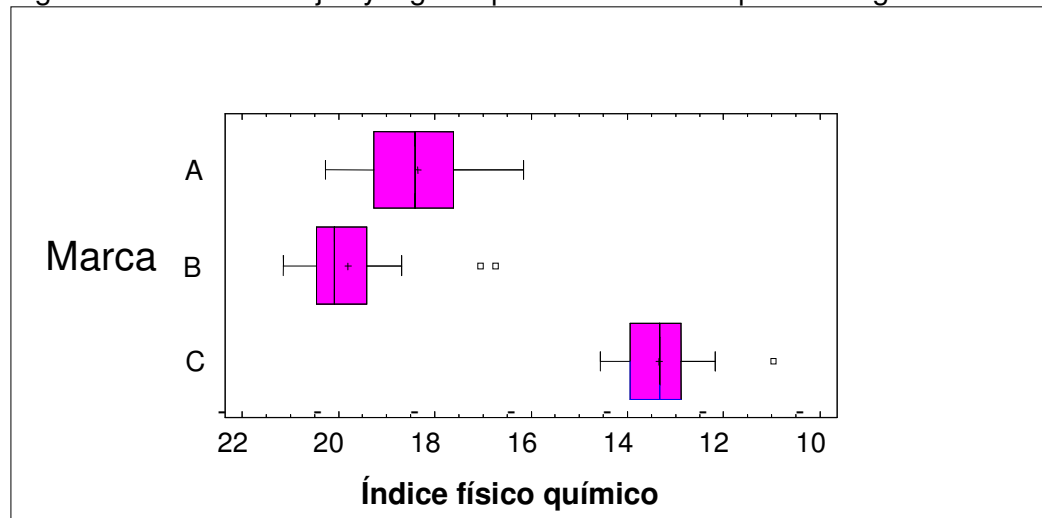
Puesto que el p-valor del test F es inferior a 0,05, se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de un nivel de marca a otro con un nivel de confianza del 95,0%.

En la figura 8 se puede observar la distribución de los resultados para las marcas A, B y C dentro de los valores obtenidos para la variable índice físico químico. Es preciso mencionar que los valores más cercanos a cero en la gráfica, indican una proporción mayor de agua agregada, en relación con las proporciones de las otras propiedades físico químicas.

Tabla 12. ANOVA para índice físico químico según marca

Fuente	Sumas de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Cociente - F	P-Valor
Entre grupos	733,236	2	366,618	386,45	0,0000
Intra grupos	88,228	93	0,948689		
Total (Corr.)	821,464	95			

Figura 8. Gráfico de cajas y bigotes para índice físico químico según marca.



Al determinar el contraste múltiple de rango para la variable índice físico químico, según la marca se confirma que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las marcas A, B, y C, para la variable en cuestión. Como se puede observar también en el cuadro 8.

Para el siguiente cuadro se aplicó un procedimiento de comparación múltiple para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras. La mitad inferior del cuadro muestra la diferencia estimada entre cada marca para las medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares, indica que éstos muestran diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza 95,0%. En la parte superior del cuadro, se identifican 3 grupos homogéneos según la alineación del signo X en la columna. Dentro de cada columna, los niveles que tienen signo X forman un grupo de medias entre las cuales no hay diferencias estadísticamente significativas. El método que se empleó para discernir entre las medias es el procedimiento de la diferencia más francamente significativa de Tukey (HSD). Con este método, hay un 5,0% de riesgo de considerar uno o más pares como significativamente diferentes cuando su diferencia real es igual a 0.

Cuadro 8. Contraste múltiple de rango para índice físico químico según marca

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey			
Marca	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
B	32	-19,8053	X
A	32	-18,3523	X
C	32	-13,3528	X
Contraste		Diferencias	+/- Límites
A-B		1,45294*	0,579988
A-C		-4,99953*	0,579988
B-C		-6,45248*	0,579988

*Indica una diferencia significativa

De este índice podemos afirmar que al comparar las medias del análisis de varianza, las marca A y B poseen un menor grado de agua agregada en sus muestras por lo que los otros componentes analizados se encontraran en concentraciones aceptables. Mientras que para la marca C, su media en el análisis de varianza se encuentra más cerca de cero lo que implica una mayor cantidad de agua agregada, que a su vez afecta a los otros componentes disminuyendo la concentración de los mismos, lo que disminuye la calidad de esta marca.

6.2.3 Intervalos para propiedades físico químicas. En la tabla 13 se pueden observar los intervalos que presentaron las tres marcas para las propiedades físico químicas.

De la tabla 13 se puede afirmar que para las propiedades físico químicas existe una gran variación entre los rangos de cada intervalo en cada propiedad para las respectivas marcas, esto durante el muestreo realizado para el presente

estudio, esta situación se puede deber probablemente a una falta en la estandarización en el control de estos parámetros de calidad que se deberían realizar a la leche en las plantas de procesamiento constantemente para los diferentes lotes de leche, ya que un proceso riguroso permitiría un mayor control de la calidad de la leche facilitando así que el producto se mantenga dentro de unos rangos estables que no presenten una variabilidad notable.

Ya que teniendo en cuenta la clasificación realizada por Parra T.¹²³ en la mayoría de los casos los valores mínimos para las propiedades evaluadas colocarían a estas muestras dentro de leches malas a regulares.

Tabla 13. Intervalo de valores para las propiedades físico químicas.

Propiedad	Marca	Mínimo	Máximo	Rango
Grasa	A	2,88	3,55	0,67
	B	3,13	3,29	0,16
	C	2,9	3,37	0,47
SNF	A	7,84	8,33	0,49
	B	7,91	8,43	0,52
	C	7,38	7,66	0,28
Densidad	A	28,8	30,8	2,0
	B	29,0	31,0	2,0
	C	24,0	27,8	3,8
Proteína	A	2,72	2,91	0,19
	B	2,58	2,94	0,36
	C	2,55	2,66	0,11
Agua agregada	A	1,45	7,17	5,72
	B	0,23	6,33	6,1
	C	9,19	12,6	3,41

¹²³ PARRA T. Op., cit. p. 11.

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 CONCLUSIONES

- En el presente estudio, se encontró un 2.08% de resultados positivos a la prueba Delvotest para antibióticos β -lactámicos.
- Las marcas comerciales A y B presentaron un 0% de resultados positivos en la prueba Delvotest para residuos de antibióticos β -lactámicos.
- La marca comercial C presentó un 6,25% de resultados positivos en la prueba Delvotest para residuos de antibióticos β -lactámicos.
- El resultado para antibióticos mediante la prueba Delvotest no está estadísticamente relacionada con la variable marca.
- El promedio de las características físico químicas: grasa, sólidos no grasos, densidad de la leche, proteínas y agua agregada a la leche; de las tres marcas de leche pasteurizada y comercializada en bolsa, de origen bovino mediante Ekomilk® en la ciudad de pasto es diferente para las marcas A, B, y C.
- Para las variables evaluadas el componente principal correspondió a la propiedad agua agregada, lo cual explica el 78,732% de la variabilidad de los otros componentes convirtiendo al agua agregada y al índice físico químico en un indicador de calidad.

7.2 RECOMENDACIONES

- Realizar estudios posteriores con un tamaño de muestra mayor, además que el estudio en mención se lleve a cabo en un periodo de tiempo mas prolongado, para abarcar un mayor numero de lotes de venta al público.
- Realizar estudios con otros métodos de detección de antibióticos, como la cromatografía o la espectrofotometría, para determinar que antibióticos

específicamente se podrían encontrar en las muestras y en que concentraciones.

- Realizar estudios para determinar la presencia de antibióticos diferentes a los β -lactámicos para la ciudad de Pasto.
- Realizar estudios a nivel de las plantas productoras para identificar posibles falencias en el control de la calidad de la leche en cuanto a la detección de residuos para drogas veterinarias
- Realizar un estudio para determinar la presencia de otros contaminantes de la leche como lo son los pesticidas, las hormonas y desparasitantes.
- Realizar estudios para las propiedades físico químicas que se complementen con las pruebas tradicionales de laboratorio, para comprobar y completar estudios a llevar a cabo con equipos como el Ekomilk.
- Determinar los rangos de referencia para las características físico químicas, en el municipio de Pasto ya que estas pueden variar dependiendo de las condiciones medio ambientales en las cuales se produce la leche.
- Realizar estudios donde se pueda correlacionar el índice físico químico encontrado en el presente trabajo para determinar si su relación con la calidad de la leche es significativa.
- Se recomienda a las autoridades correspondientes, realizar muestreos y análisis periódicos de la leche que es expendida en la ciudad de Pasto, para garantizar la calidad de la misma.
- Se recomienda fortalecer el control de calidad a nivel de los laboratorios, en las plantas de proceso de leche, para evitar la producción de leche que no cumplan con las normas mínimas vigentes de calidad.
- Realizar estudios similares en otros productos derivados de la leche, así como en otros productos de origen animal (carne, el pescado, los huevos y embutidos).

BIBLIOGRAFÍA

AGROCADENAS DE COLOMBIA, MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL, IICA, Estadísticas agroindustria láctea de Colombia. [en línea]. Pagina web versión Xls, [fecha de consulta: 7 de febrero 2007]. Disponible en Internet: www.agrocadenas.gov.co

ALTHAUS, R. L. TORRES, A. MONTERO, A. BALASCH, S. MOLINA, M. P. Detection limits of antimicrobials in ewe milk by Delvotest photometric measurements. p. 3. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: febrero 19 de 2007]. Disponible en Internet: <http://jds.fass.org/cgi/content/abstract/86/2/457>

BOTANA LÓPEZ, Luís M., Farmacología y terapéutica veterinaria. Madrid, España. 2002. p. 493.

BGB-BIOGEN GMBH. Cefalosporinas. [En línea]. Página web versión Html. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.dic.org.ar/enfpleu/epp099.php#7.4.3>.

_____ Infecciones pulmonares. [En línea]. Página web versión Html. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.dic.org.ar/enfpleu/epp100.php#7.4.3.1>.

CANADA. BRITISH COLUMBIA MINISTRY OF AGRICULTURE, FISHERIES AND FOOD DAIRY TALK, Added water: the hidden costs. [en línea]. Página Web versión Pdf. [fecha de consulta: agosto 24 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.al.gov.bc.ca/dairy/publications/documents/added_water.pdf

CALDERÓN JAIMES, Ernesto. Cefalosporinas de segunda generación. p. 3. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.conapeme.org.mx/manual_antibióticos/cefalosporinas.pdf

CALVINHO, Luís F. ¿Cómo producir leche sana?. 2003. [en línea]. Pagina web versión Html. [fecha de consulta: septiembre 14 2007]. Disponible en Internet: http://www.cuencarural.com/lecheria/como_producir_leche_sana/

CASANOVA CARDIEL, Luís. Carboxipenicilinas, ureidopenicilinas y sulfopenicilinas. p. 1. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.conapeme.org.mx/manual_antibióticos/carboxipenicilinas.pdf

CLOSA, Sara Josefina, DE LANDETA María C., ANDÉRICA Daniel, PIGHÍN Andrés, CUFRE Juan A. Contenido de nutrientes minerales en

leches de vaca y derivados de Argentina. Archivos latinoamericanos de nutrición. Departamento de Tecnología. Universidad Nacional de Luján. Argentina. [en línea]. Pagina versión Html. [fecha de consulta febrero 16]. Disponible en Internet: <http://www2.scielo.org.ve/scielo.php>.

CÓDIGO DE PRÁCTICAS DE HIGIENE PARA LA LECHE Y LOS PRODUCTOS LÁCTEOS CAC/RCP 57–2004. 4, 5p. [En línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta 16 Febrero de 2007]. Disponible en internet: www.codexalimentarius.net/download/standards/10087/CXC_0572004s.pdf

COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Decreto numero 616 de 2006. p. 4. [en línea]. Pagina Web versión Html, [fecha de consulta: 16 de febrero]. Disponible en Internet: <http://www.planalidadleche.org.co/Decreto%20616%2028-02-2006%20MinProteccion.pdf>

CORIA LORENZO, José de Jesús. Cefalosporinas. p. 1. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.conapeme.org.mx/manual_antibióticos/cefalosporinas.pdf

CUÉ BRUGUERAS, Manuel y MOREJÓN GARCÍA Moisés. Antibacterianos de acción sistémica. Parte I. antibióticos β -lactámicos. p. 3. [En línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 1, 2007]. Disponible en Internet: <http://scielo.sld.cu/pdf/mgi/v14n4/mgi08498.pdf>

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA Y TERAPÉUTICA DE LA FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. Penicilinas. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.uam.es/departamentos/medicina/farmacologia/especifica/F_General/FG_T62.pdf

DR. MSC. NÚÑEZ FREILE, Byron. Uso racional de los antibióticos. p. 4. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: <http://virtual.unipar.br/courses/CL/document/penicilinas3.pdf?cidReq=CL>

DSM. Delvotest – Used everywhere. . [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 15 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.dsm.com/le/en_US/delvotest/html/delvotest_1.htm

FABRE J.M. 2.4. Risks related to the presence of antibiotic residues in food. 2006. p. 3. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: febrero 7 2007]. Disponible en Internet: http://www.dsm.com/le/static/delvotest/downloads/LesRisquesDeResidus_extrait3_En.pdf

FABRE J.M. 3.2 Maximum residue limit. 2006. p. 1. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: febrero 7 2007]. Disponible en Internet: http://www.dsm.com/le/static/delvotest/downloads/LesRisquesDeResidus_extrait2_En.pdf

_____ 4.1 Antibiotic detection methods in milk. 2006. p. 3. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: febrero 7 2007]. Disponible en Internet: http://www.dsm.com/le/static/delvotest/downloads/LesRisquesDeResidus_extrait4_En.pdf

FAJARDO, Rosita y CIFUENTES, Jorge. Diccionario Geográfico de Colombia. Santa Fe de Bogota D.C.: Instituto geográfico "Agustín Codazzi". P. 350.

FAO/OMS. El Codex alimentarius de la FAO/OMS y el control de residuos de plaguicidas, citado por PARRA Op. cit., p. 11.

GÓMEZ GARCÍA, A. C., PÉREZ Giraldo, C., BLANCO ROCA, M. T., MORÁN DOMÍNGUEZ F. J., HURTADO MANZANO, C. Penicilinas. 1998. p. 4. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.sepeap.es/libros/MEDICINE98/Artikulu/m8003.pdf>

ING. MAST. CIENCE ZAVALA POPE, José Mauricio. Aspectos nutricionales y tecnológicos de la leche. 2005. p. 28. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: marzo 20 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.minag.gob.pe/dgpa1/ARCHIVOS/agroin_doc2.pdf

LA UNIVERSIDAD DEL ZUILA, FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN E INDUSTRIA ANIMAL, CÁTEDRA DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LA LECHE. Determinación de adulteración de la leche con agua, cloruros y sacarosa, Guía práctica. 2002. p. 3. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 10 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.lactologia.org/Documentos/Adulteraciones.pdf>

_____ Determinación de grasa y sólidos totales en leche y derivados. Guia practica. p. 3. [en línea]. Pagina Web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 10 de 2007]. Disponible en Internet: http://members.tripod.com.ve/tecnologia/solidosygrasa_archivos/STyGRASA.pdf

_____ Introducción al control de calidad de la leche cruda, Guía práctica. 2003. p. 11. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 10 de 2007]. Disponible en Internet: http://members.tripod.com.ve/tecnologia/Introduccion_archivos/Introduccion.pdf

LACTOSAN, Milk falsification. [en línea]. Página Web versión Html. [fecha de consulta: agosto 24 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.lactoscan.com/articles/milkfals.html>

LEVY, Stuart B. Factors impacting on the problem of antibiotic resistance. The 2000 Garrod Lecture. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2002. p. 25. [en línea]. Archivo web versión PDF. [fecha de consulta: marzo 26 de 2007]. Disponible en Internet: <http://jac.oxfordjournals.org/cgi/reprint/49/1/25?maxtoshow=&HITS=10&hits=10&RESULTFORMAT=&fulltext=antibiotic+residues&searchid=1&FIRSTINDEX=0&resourcetype=HWCIT>

MAGARIÑOS, Haroldo. Producción higiénica de la leche cruda para la pequeña y mediana empresa. [en línea]. Pagina versión Pdf. [fecha de consulta marzo 15]. Disponible en Internet: http://www.science.oas.org/OEA_GTZ/LIBROS/LA_LECHE/leche_all.pdf

MALABRAN G., Carlos. Métodos estandarizados para la determinación de la sensibilidad antimicrobiana en bacterias aisladas de animales. 2001. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: febrero 16 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.cdc.gov./ncidod/dbmd/gss/publications/documents/ArgentinaLevelI/CIM_ATB_ANIMAS

MARÍN, Mar, GUDIOL, Francesc. Antibióticos β -lactámicos. p. 1. [En línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 1 de 2007]. Disponible en Internet: http://external.doyma.es/espacioformacion/eimc/eimc_docs/28v21n01a13042137pdf001.pdf

MCDERMOTT P. F., ZHAO S, WAGNER D. D, SIMJEE S., WALKER R. D., WHITE D. G. The food safety perspective of antibiotic resistance. 2002. p. 71-84. [en línea]. Archivo web versión Html. [fecha de consulta: marzo 26 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?itool=abstractplus&db=pubmed&cmd=Retrieve&dopt=abstractplus&list_uids=12212946

MÉXICO. UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA. Control físico-químico de la leche. Julio del 2004. p. 9. [en línea]. Pagina web versión ppt. [fecha de consulta: septiembre 10 de 2007]. Disponible en Internet: <http://academicos.cualtos.udg.mx/DiplomadoCalidadLeche/doctos/24jul04/Control%20fisico%20quimico%20%20de%20la%20leche.ppt>

MITCHELL Mark, NORRIS Brenda. Testing goat milk for antibiotic residues. Ontario Ministry of agriculture, food and rural affairs. 2005. [En línea]. Pagina web versión Html. [fecha de consulta: 16 de Febrero 2007]. Disponible en Internet: <http://www.omafra.gov.on.ca/english/livestock/goat/news/dgg0510a4.htm>

MONOGRAFIAS.COM. Lácteos. [en línea]. Pagina web versión Html. [fecha de consulta: agosto 18 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.monografias.com/trabajos6/lacte/lacte.shtml>

MUNDO HELADO.COM. Los sólidos no grasos lácteos (S.N.G.L) o magros de la leche. [en línea]. Pagina web versión Html. [fecha de consulta: septiembre 11 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.mundohelado.com/helados/sngl.htm>

OCAMPO C., Luís. Residuos de fármacos en productos de origen animal. p. 7. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: febrero 7 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.fmvz.unam.mx/bovinotecnia/BtRgClig011.pdf>

ORTIZ IBARRA, Javier. Cefalosporinas de cuarta generación. p. 5. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.conapeme.org.mx/manual_antibióticos/cefalosporinas.pdf

PARRA T. Maria Helena. Los residuos de medicamentos en la leche, problemática y estrategias para su control. Neiva (Colombia): CORPOICA-PRONATA. 2003. p. 39.

POPELKA, Peter, NAGY, Jozef, POPELKA, Pavel, MARCINCAK, Slavomir, ROZANKA, Hanna, SOKOL, Jozef. Comparison of sensitivity of various screening assays and liquid chromatography technique for penicillin residue detection in milk. 2004. p. 1. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: mayo 2 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.piwet.pulawy.pl/doc/biuletyn_48-3/18_popelka.pdf

_____. Comparison of various methods for penicillin residue detection in cow milk after intramammary and parenteral treatment. 2002. p. 1. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: mayo 2 de 2007]. Disponible en Internet: http://esterka.piwet.pulawy.pl/doc/biuletyn_47-1/26-357_Popelka.pdf

RESTREPO SALAZAR, Juan Gonzalo. Terapéutica veterinaria. Medellín, Colombia. 2006. p. 42.

RUSHING J.E., WESEN D.P. Preventing antibiotic residues in milk. Departments of Food Science and Animal Science, North Carolina State University. [en línea]. Pagina web versión Html. [fecha de consulta: febrero 7 de 2007]. Disponible en Internet: http://www2.ncsu.edu/ncsu/cals/food_science/faculty/rushing/jrushing.html

SAN MARTÍN N., Betty. Residuos de antibióticos y sulfas en leche. TECNO VET; Año N° 3, diciembre de 1995. [en línea]. Pagina versión Html. [fecha de consulta: febrero 16 2007]. Disponible en Internet: www.tecnovet.uchile.cl

LABORATORIOS TETUR. Ekomilk milkana, analizador integral de leche. 2005. p. 1-2. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: agosto 4 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.tuteur.com.ar/files/productos/3_1_EKOMILK_Mal_de_leche.pdf

TORNADIJO, M., MARRA, A., FONTÁN, M., PRIETO C. y CARBALLO, J. La calidad de la leche destinada a la fabricación de queso: calidad química. p. 2. [En línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 1 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.geocities.com/CapeCanaveral/Lab/2654/page18d.htm>

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. DIPLOMATURA EN NUTRICIÓN HUMANA Y DIETÉTICA. Prácticas, productos lácteos. 2003. p. 14. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 11 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/mrgarcia/Lacteos-2005/Practicas%20_05-06_.pdf

WIKIPEDIA, LA ENCICLOPEDIA LIBRE. Leche. [en línea]. Pagina versión Html. [fecha de consulta: febrero 16]. <http://es.wikipedia.org/wiki/leche#propiedadesnutricionales>.

WIKIPEDIA, The free encyclopedia. Beta-lactam antibiotic. [En línea]. Pagina web versión Html. [fecha de consulta: septiembre 18 de 2007]. Disponible en Internet: http://en.wikipedia.org/wiki/Beta-lactam_antibiotic

ANEXOS

Anexo A. Pruebas para propiedades físico químicas para leche pasteurizada.

marca	GRASA	SNF	DENSIDAD	AGUA AGREGADA	PROTEÍNA	Delvotest	Índice Físico Químico
A	3,12	8,29	30,50	1,85	2,89	0	-19,98671522
A	3,10	8,24	30,30	2,44	2,87	0	-19,55507641
A	3,11	8,24	30,30	2,44	2,87	0	-19,55594938
A	2,88	8,10	30,00	4,10	2,81	0	-18,45448363
A	3,14	8,29	30,50	1,87	2,89	0	-19,97842055
A	2,90	8,14	30,10	3,63	2,83	0	-18,77150932
A	3,11	8,00	30,00	5,27	2,78	0	-17,82214094
A	3,11	7,99	29,30	5,39	2,78	0	-17,41143262
A	3,49	8,06	29,30	4,56	2,81	0	-17,91127546
A	3,28	8,05	29,40	4,67	2,80	0	-17,87710105
A	2,97	8,13	30,00	3,74	2,83	0	-18,66802731
A	2,90	8,12	30,00	3,84	2,82	0	-18,60174562
A	3,46	8,27	30,10	2,14	2,88	0	-19,65842249
A	3,47	8,28	30,20	2,03	2,89	0	-19,77383586
A	3,50	8,33	30,40	1,45	2,91	0	-20,20132734
A	3,38	7,94	28,90	5,95	2,76	0	-16,92147253
A	3,54	8,11	29,40	3,99	2,82	0	-18,28119578
A	3,55	8,14	29,50	3,65	2,84	0	-18,52706427
A	3,02	8,31	30,80	1,60	2,89	0	-20,26158125
A	3,05	8,10	29,80	4,10	2,82	0	-18,37557334
A	3,09	8,17	30,10	3,27	2,84	0	-18,98883514
A	3,08	8,15	30,00	3,50	2,83	0	-18,80815785
A	3,00	7,84	28,80	7,17	2,72	0	-16,15648021
A	3,02	7,88	29,00	6,70	2,73	0	-16,51790751
A	3,01	7,85	28,90	7,06	2,72	0	-16,26694599
A	3,22	8,08	29,60	4,33	2,81	0	-18,16126034

A	3,19	8,06	29,50	4,56	2,80	0	-17,97883711
A	3,11	8,11	29,80	3,97	2,82	0	-18,4510954
A	3,10	8,03	29,50	4,92	2,79	0	-17,77024101
A	3,09	7,99	29,40	5,39	2,78	0	-17,45903588
A	3,07	7,94	29,20	5,98	2,76	0	-17,02739706
A	3,09	7,95	29,20	5,86	2,76	0	-17,09440693
B	3,18	8,27	30,40	2,10	2,58	0	-19,65368042
B	3,17	8,34	30,80	0,80	2,92	0	-20,706204
B	3,21	8,33	30,60	1,40	2,90	0	-20,29486351
B	3,21	8,31	30,50	1,63	2,89	0	-20,11505919
B	3,23	8,29	30,20	2,46	2,87	0	-19,53213623
B	3,22	8,21	30,10	2,80	2,86	0	-19,26611432
B	3,21	8,20	30,10	2,93	2,85	0	-19,19000953
B	3,23	8,43	31,00	0,23	2,94	0	-21,15137489
B	3,17	8,24	30,30	2,44	2,87	0	-19,56118721
B	3,21	8,35	30,70	1,16	2,91	0	-20,47968814
B	3,24	8,39	30,80	0,71	2,92	0	-20,7825986
B	3,21	8,34	30,70	1,29	2,91	0	-20,40940391
B	3,27	8,23	30,20	2,58	2,87	0	-19,44526319
B	3,18	8,35	30,70	1,16	2,91	0	-20,47706923
B	3,19	8,37	30,80	0,93	2,92	0	-20,65774652
B	3,18	8,35	30,70	1,16	2,91	0	-20,47706923
B	3,14	8,28	30,50	1,97	2,88	0	-19,91824966
B	3,15	8,30	30,50	1,74	2,89	0	-20,04957775
B	3,18	8,34	30,70	1,27	2,91	0	-20,41682562
B	3,15	8,30	30,50	1,74	2,89	0	-20,04957775
B	3,16	8,32	30,60	1,51	2,90	0	-20,23025504
B	3,14	8,15	30,00	3,50	2,84	0	-18,81834327
B	3,13	8,14	29,90	3,63	2,83	0	-18,69288928
B	3,15	8,17	30,00	3,27	2,84	0	-18,94472377
B	3,29	8,31	30,50	1,65	2,90	0	-20,11694994

B	3,17	7,91	29,00	6,33	2,75	0	-16,74170934
B	3,19	7,95	29,10	5,86	2,76	0	-17,05378745
B	3,28	8,27	30,30	2,12	2,88	0	-19,75144802
B	3,28	8,26	30,30	2,83	2,88	0	-19,38998581
B	3,26	8,35	30,60	1,18	2,91	0	-20,42466318
B	3,26	8,32	30,50	1,52	2,90	0	-20,18461525
B	3,28	8,39	30,80	0,71	2,92	0	-20,78609049
C	3,12	7,47	27,30	11,50	2,59	0	-13,00285757
C	3,11	7,46	27,20	11,60	2,58	0	-12,89246451
C	3,11	7,44	27,10	11,90	2,57	0	-12,67751802
C	3,15	7,51	27,40	11,00	2,60	0	-13,33086958
C	3,08	7,42	27,10	12,10	2,57	0	-12,56445251
C	3,27	7,52	27,30	10,90	2,61	0	-13,35216693
C	3,07	7,38	26,90	12,60	2,55	0	-12,18388965
C	3,08	7,41	24,00	12,20	2,56	0	-10,97445642
C	3,08	7,55	27,60	10,60	2,62	0	-13,65424556
C	3,11	7,49	27,30	11,30	2,59	0	-13,1124312
C	3,10	7,48	27,30	11,40	2,59	0	-13,05633493
C	3,09	7,45	27,20	11,80	2,58	0	-12,78529217
C	3,12	7,51	27,40	11,00	2,60	0	-13,32825066
C	3,37	7,66	27,80	9,19	2,66	0	-14,56113641
C	3,34	7,63	27,70	9,55	2,65	0	-14,30842895
C	3,31	7,55	27,40	10,50	2,62	0	-13,62582861
C	3,36	7,65	27,80	9,31	2,65	0	-14,49005193
C	3,34	7,58	27,50	10,10	2,63	0	-13,89861732
C	3,22	7,59	27,60	10,00	2,64	0	-13,99766174
C	3,22	7,60	27,70	9,94	2,64	0	-14,082153
C	3,09	7,42	27,10	12,10	2,57	0	-12,56532548
C	3,30	7,55	27,40	10,50	2,62	0	-13,62495564
C	3,21	7,58	27,60	10,20	2,63	0	-13,88641478
C	3,23	7,63	27,80	9,58	2,65	0	-14,33311453

C	3,32	7,60	27,60	9,91	2,64	0	-14,05659445
C	3,12	7,46	27,20	11,60	2,58	0	-12,89333748
C	3,14	7,50	27,40	11,10	2,60	0	-13,27477331
C	2,92	7,48	27,50	11,50	2,59	0	-13,08911673
C	3,30	7,56	27,50	10,40	2,62	0	-13,72952814
C	2,90	7,45	27,40	11,90	2,58	0	-12,817201
C	3,27	7,48	27,20	11,30	2,59	1	-13,07202935
C	3,34	7,60	27,60	9,89	2,64	1	-14,06838102